

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THIAGO BELTRAMI DIAS BATISTA

IMPORTÂNCIA DA CITOLOGIA CLÍNICA NA DETECÇÃO DE LESÕES ORAIS
EM PACIENTES PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA (HIV)

CURITIBA
2014

THIAGO BELTRAMI DIAS BATISTA

IMPORTÂNCIA DA CITOLOGIA CLÍNICA NA DETECÇÃO DE LESÕES ORAIS EM
PACIENTES PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Suely Soares Leonart
Coorientadores: Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima e Prof. Dr. Sandro Germano

CURITIBA
2014

*A todos que dedicam suas vidas à pesquisa e que contribuem
com a expansão do conhecimento da humanidade.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família, que sempre apoiou em todas as horas as minhas decisões, por mais estranhas que parecessem, por entenderem meus momentos de estresse, momentos de isolamento em que não pude estar presente em reuniões familiares; por serem meu suporte emocional e exemplo de todas as coisas boas que herdei.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Maria Suely Soares, pelas inúmeras horas de dedicação investidas em mim e por sempre ter me apoiado; nos momentos de trabalho aos finais de semana, férias e feriados, sempre ajudando, mesmo quando não estava presente.

Aos meus coorientadores, que foram a semente da pesquisa. Surgiram com ideias inovadoras em uma área onde a pesquisa acadêmica tem muito a oferecer. Prof. Dr. Sandro Germano, com suas habilidades únicas de fazer tudo funcionar da maneira correta, sempre dedicado à área acadêmica, instigante e estimulador de todos que o cercam; e Prof. Dr. Antônio Adilson Soares de Lima, que me recebeu de portas abertas, me introduzindo a essa magnífica área da odontologia que é a estomatologia, me apresentando ao pessoal do Hospital Oswaldo Cruz e disponibilizando o contato com seus pacientes, o que foi fundamental para a realização deste trabalho.

Tenho muito a agradecer à Verônica, prima, irmã, que conviveu comigo todos os dias, no mesmo apartamento, sempre me aconselhando, pelos momentos de descontração e lazer.

Aos meus queridos amigos, Leonardo, Isabela e Mariana, a quem eu recorria sempre que necessitava de um artigo que eu não tinha acesso e que necessitava muito.

Às minhas companheiras de laboratório e parceiras de pesquisa Andressa, Aline, Michelli e Vanessa, sem as quais certamente não conseguiria passar tantas horas a fio dentro do laboratório; obrigado pelos momentos de risos e seriedade dentro do laboratório.

À minha amiga Luciane, companheira de trabalho, citologista, uma profissional extremamente competente. Responsável por ministrar minha primeira

aula de citologia clínica, quando descobri que tinha uma nova paixão dentro das análises clínicas.

A todos os meus colegas de mestrado, pelas reuniões em finais de semana, pelas ajudas recebidas ao longo desses dois anos, pelo compartilhamento de ideias, críticas e sugestões, aliado aos vários momentos de descontração que tive com vocês.

Aos profissionais do Hospital Oswaldo Cruz que me auxiliaram de forma ímpar nesse trajeto, especialmente à Dr.^a Francisca Berenice Gil, que me acompanhou literalmente todos os dias nos momentos em que passei no hospital; também ao ex-diretor Dr. Paulo Faria e à atual diretora do hospital Dr.^a Rosana, que aceitaram e aprovaram a realização dessa pesquisa.

Aos pacientes que, mesmo em sua condição, se prontificaram a participar da pesquisa; espero que este trabalho possa auxiliá-los nessa jornada que é conviver com o vírus do HIV dia após dia.

Agradeço a Deus por me dar a força espiritual necessária nessa caminhada.

"I have not eaten enough of the Tree of Knowledge, though in my profession I am obliged to feed on it regularly."

"Eu não tenho me nutrido o suficiente da Árvore da Sabedoria, embora na minha profissão eu seja obrigado a me alimentar regularmente."

Albert Einstein

RESUMO

O retrovírus HIV é o agente responsável pelo desenvolvimento da AIDS em seu portador. No final da última década, o número aproximado de portadores do vírus no mundo era de 34 milhões de pessoas. No Brasil, o principal problema é o diagnóstico tardio. Cerca de 718 mil brasileiros são portadores do vírus, mas presume-se que em torno de 20% ainda não foram diagnosticados. Muitas pessoas procuram ajuda quando já estão doentes ou com os níveis de linfócitos T CD4+ baixos e, a maioria, descobre o HIV quando procura o serviço de saúde em razão de outras doenças. A detecção do vírus deve ser precoce para que o tratamento seja iniciado na época correta, diminuindo riscos de transmissão e de complicações causadas pela infecção. Lesões orais, principalmente a candidíase e a leucoplasia pilosa, são consideradas dentre os primeiros sinais clínicos, altamente associados à infecção pelo HIV em adultos. Tais lesões têm sido utilizadas como marcadores do início da imunossupressão. Este estudo visa avaliar a capacidade de detecção do exame citológico oral para a presença de candidíase e leucoplasia pilosa, em relação ao exame físico odontológico. Foram selecionados 58 pacientes HIV positivos, internados por complicações de HIV/AIDS no Hospital Oswaldo Cruz – Curitiba-PR, no período de março a agosto de 2013, sendo 41 do sexo masculino (70,7%) e 17 do sexo feminino (29,3%), com idades entre 23 e 72 anos, em geral solteiros, fumantes, etilistas, com baixa renda e ensino médio incompleto. Os resultados mostraram elevada frequência de lesões (67,2%), como esperado em pacientes com baixa imunidade, com incidência de 62,1% de candidíase oral e de 24,1% de leucoplasia pilosa oral. Foram detectados também três casos de herpes simples; um de lesão granulomatosa, confirmado cito e histologicamente como paracoccidioidomicose, e; uma lesão neoplásica, classificada como sarcoma de Kaposi. A incidência de candidíase oral observada por avaliação clínica (27 casos) e por citologia clínica (27 casos), foi maior ao se considerar os resultados de ambas (36 casos), isto porque houve concordância em 18 observações e 9 casos discordantes para cada uma das duas metodologias. Para a leucoplasia pilosa oral, a citologia se mostrou mais sensível (13 casos) em relação ao exame físico (6 casos), com o total de 14 casos. Assim, a discordância entre os dois métodos foi de apenas 1 caso para a citologia e 8 casos para o exame clínico. O maior número de casos positivos para leucoplasia pilosa oral detectados pela citologia sugere que se trata de uma metodologia capaz de rastrear essa lesão em sua fase subclínica. A incidência das lesões ocorreram quase todas em pacientes com contagens de linfócitos T CD4+ abaixo de 250 células/ μ L, ou seja, com a imunidade comprometida, o que aponta para a importância de se realizar exames clínico e citológico da mucosa oral em pacientes com HIV. Quando o diagnóstico é realizado utilizando-se as duas metodologias, aumenta-se a sensibilidade para a detecção das lesões, além do fato da citologia poder explicar suspeitas não confirmadas pela clínica. A partir dos resultados obtidos neste estudo, pode-se sugerir a investigação mais abrangente de populações de indivíduos portadores de HIV no que se refere a lesões da mucosa oral e ainda, que as pessoas que apresentarem essas lesões orais realizem o teste para HIV, o que facilitaria o tratamento da doença.

Palavras-chave: Citologia. HIV. Citologia oral. Leucoplasia pilosa. Candidíase oral.

ABSTRACT

The HIV retrovirus is responsible for the development of AIDS in its carrier. At the end of the last decade, the approximate number of virus carriers worldwide was 34 million people. In Brazil, the main problem is the late diagnosis. About 718 thousand Brazilians are carriers of the virus, but it is assumed that about 20% have not been diagnosed yet. Many people seek help when they are already sick or when presents low levels of CD4+ T lymphocytes; most patients discover be HIV positive when seeking the health service due to others diseases. Therefore, the HIV treatment can be started at the right time, the carrier of the virus must be diagnosticaded as soon as possible, reducing the transmission risks and complications caused by infection. Oral lesions, especially candidiasis and oral hairy leukoplakia, are considered among the earliest clinical signs highly associated with HIV infection in adults. Such lesions have been used as markers of immunosuppression, usually caused by treatment failure. Based on concern to detect the installation of immunosuppression in HIV positive individuals, this study aims to evaluate the detection capability of the oral cytological examination for the presence candidiasis and oral hairy leukoplakia in relation to dental physical examination. From March to August 2013, 41 males (70.7%) and 17 females (29,3%) totalizing 58 HIV positive patients, hospitalized due to complications of HIV/AIDS in the Hospital Oswaldo Cruz were selected, aged 23 to 72 years, usually unmarried, smokers, drinkers, with low income and incomplete secondary education. The results showed high frequency of oral lesions (67.2 %), as expected in patients with low immunity, with an incidence of 62.1 % of oral candidiasis and 24.1% of oral hairy leukoplakia. A granulomatous lesion were cytologically and histologically confirmed as paracoccidioidomycosis and, a neoplastic lesion, classified as Kaposi's sarcoma were also detected, as 3 herpes simplex viruses cases. The incidence of oral candidiasis observed by clinical evaluation (27 cases) and clinical cytology (27 cases) was higher when considering the results of both (36 cases), this is because there was agreement on 18 observations and 9 discordant cases for each the two methodologies. On the other hand, cytology was more sensitive detecting oral hairy leukoplakia (13 cases) compared to clinical examination (6 cases), with a total of 14 cases. Thus, the disagreement between the two methods was only 1 case for cytology and 8 cases for the clinical examination. The highest number of positive cases for oral hairy leukoplakia detected by cytology suggests that it is a methodology able to track this lesion in its subclinical phase. The incidence of lesions were almost all patients with lymphocyte counts T CD4+ below 250 cells/ μ L, which points to the importance of conducting clinical and cytological oral mucosa in patients with HIV. When the diagnosis is performed using both methodologies, this increases the sensitivity for lesions detection, besides the fact that cytology can explain not confirmed suspicions by clinical detection. The results obtained in this study, may suggest a more comprehensive investigation of populations of HIV-infected individuals with regard to lesions of the oral mucosa.

Key words: Cytology. HIV. Oral cytology. Oral hairy leukoplakia. Oral candidiasis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CANDIDÍASE ERITEMATOSA EM DORSO DE LÍNGUA.....	42
FIGURA 2 – CANDIDÍASE PSEUDOMEMBRANOSA EM MUCOSA JUGAL.....	42
FIGURA 3 – LEUCOPLASIA PILOSA NA LATERAL DA LÍNGUA	43
FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIA DE ELEMENTOS FÚNGICOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM <i>Candida albicans</i> ...	45
FIGURA 5 – FOTOMICROGRAFIA DE ELEMENTOS FÚNGICOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM <i>Candida albicans</i> ...	45
FIGURA 6 – FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULA COM INCLUSÃO INTRANUCLEAR COWDRY TIPO A	46
FIGURA 7 – FOTOMICROGRAFIA DE NÚCLEO EM COLAR	47
FIGURA 8 – FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS COM NÚCLEO EM VIDRO FOSCO	47
FIGURA 9 - DISTRIBUIÇÃO POR FAIXA ETÁRIA, EM ANOS, DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013	49
FIGURA 10 - DISTRIBUIÇÃO DE RENDA DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013	50
FIGURA 11 - DISTRIBUIÇÃO, EM MESES, DO TEMPO DECORRIDO DO DIA DO DIAGNÓSTICO PARA PORTABILIDADE DO HIV ATÉ O DIA DA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013.....	52
FIGURA 12 CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN- WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-3,49$; $p<0,05$)	53
FIGURA 13 - CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN- WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-1,06$; $p>0,05$)	54
FIGURA 14 - PORCENTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN- WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-3,18$; $p<0,05$)	55

FIGURA 15 - PORCENTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO ANTES DA INTERNAÇÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (<i>Mann-Whitney U Test</i> , $\alpha=0,05$; $Z = 0,13$; $p>0,05$).....	56
FIGURA 16 - CARGA VIRAL SÉRICA EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO ANTES DA INTERNAÇÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ - SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ. CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (<i>Mann-Whitney U Test</i> , $\alpha=0,05$; $Z=3,17$; $p<0,05$)	57
FIGURA 17 - CARGA VIRAL SÉRICA EM PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ. CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (<i>MANN-WHITNEY U TEST</i> , $\alpha=0,05$; $Z=1,34$; $p>0,05$)	58
FIGURA 18 – PACIENTE ATENDIDO NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ, CURITIBA-PR, APRESENTANDO CANDIDÍASE ORAL E LEUCOPLASIA PILOSA	61
FIGURA 19 - CANDIDÍASE ORAL (CO) TIPO PSEUDOMEMBRANOSA DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013	62
FIGURA 20 - CANDIDÍASE ORAL (CO) TIPO ERITEMATOSA DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR	62
FIGURA 21 - LEUCOPLASIA PILOSA (LP) DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO À JULHO DE 2013	63
FIGURA 22 – FOTOMICROGRAFIA DE ESTRUTURAS MORFOLOGICAMENTE COMPATÍVEIS COM <i>Candida</i> sp. (PAPANICOLAOU, x400)	66
FIGURA 23 – FOTOMICROGRAFIA DE ALTERAÇÕES CITOPÁTICAS COMPATÍVEIS COM LEUCOPLASIA PILOSA (PAPANICOLAOU, x400)	66
FIGURA 24 – FOTOMICROGRAFIA DE ALTERAÇÕES CITOPÁTICAS COMPATÍVES COM HERPES SIMPLES (PAPANICOLAOU, x400) ...	67
FIGURA 25 – FOTOMICROGRAFIA DE LEVEDURAS DE <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> (A - PAPANICOLAOU, x1000; B - TÉCNICA DE GROCOTT, x1000)	67
FIGURA 26 - COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA CLÍNICA E O EXAME FÍSICO NA DETECÇÃO DE CANDIDÍASE ORAL E LEUCOPLASIA PILOSA.	68

FIGURA 27 - CASOS DE DISCORDÂNCIAS E CONCORDÂNCIAS ENTRE AS TÉCNICAS UTILIZADAS	68
FIGURA 28 - FREQUÊNCIA NA DISTRIBUIÇÃO DAS LESÕES DIVIDIDAS POR FAIXA DE CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+	69

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – ESTAGIAMENTO DA PROGRESSÃO DA INFECÇÃO POR HIV	23
QUADRO 2 – CLASSES DE MEDICAMENTOS ANTIRRETROVIRAIS DISTRIBUÍDOS PELO SUS.....	26
QUADRO 3 – ESQUEMA DE INÍCIO DO TARV EM PACIENTES HIV/AIDS RECOMENDADO PELO DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS	27
QUADRO 4 – DESCRIÇÃO DE ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NA BOCA E EM ÓRGÃOS ANEXOS	30

LISTAS DE SIGLAS

AIDS	-	Adquired Imunodeficiency Deasease Sindrome
CDC	-	Center for Diseases Control and Prevention
CO	-	Candidíase Oral
DNA	-	Deoxyribonucleic acid
EBV	-	Epstein–Barr virus
HAART	-	Highly Active Anti-Retroviral Treatment
HIV	-	Human Imunodeficiency Virus
LP	-	Leucoplasia Pilosa Oral
MMWR	-	Morbidity and Mortality Weekly Report
PAS	-	Periodic Acid Schiff
PCP	-	Pneumonia por Pneumocystis carinii
SRA	-	Síndrome Retroviral Aguda
TARV	-	Tratamento Antirretroviral
TCLE	-	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFC	-	Unidade formadora de colônia
UNAIDS	-	Joint United Nations Programme on hiv/aids
WHO	-	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 AS PRIMEIRAS DESCOBERTAS SOBRE HIV/AIDS	17
2.2 AIDS NO BRASIL	18
2.3 EPIDEMIOLOGIA	19
2.4 O HIV	19
2.4.1 Infecção e replicação viral	21
2.5 EVOLUÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA	21
2.6 DIAGNÓSTICO E ACHADOS LABORATORIAIS	23
2.7 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL	25
2.8 ESTOMATOLOGIA	28
2.8.1 Alterações encontradas na boca e órgãos anexos	29
2.9.1 Candidíase oral	29
2.9.1.1 Diagnóstico de candidíase oral	31
2.9.2 Leucoplasia pilosa	32
2.9.2.1 Diagnóstico da leucoplasia pilosa oral	33
2.10 CITOLOGIA CLÍNICA	34
2.11 CITOLOGIA ORAL	35
2.11.1 Achados citológicos na candidíase oral	35
2.11.2 Achados citológicos na leucoplasia pilosa oral	36
2.12 CONSIDERAÇÕES	36
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.1 MATERIAL	39
4.1.1 Amostra	39
4.1.3 Produtos e equipamentos utilizados	39
4.2 MÉTODOS	40
4.2.1 Exame clínico	40

4.2.2	Anamnese	40
4.2.3	Avaliação da mucosa oral	41
4.2.3.1	Crítérios para avaliação de candidíase oral (CO)	41
4.2.3.2	Crítérios para avaliação de leucoplasia pilosa oral	42
4.2.4	Coleta do material	43
4.2.5	Processamento do material	43
4.2.6	Coloração e montagem das lâminas	44
4.2.7	Avaliação citológica	44
4.2.7.1	Crítérios para avaliação de candidíase oral	44
4.2.7.2	Crítérios para avaliação de leucoplasia pilosa	46
4.2.8	Determinação da eficácia dos métodos	47
4.2.9	Testes estatísticos	48
5	RESULTADOS	49
5.1	PERFIL DOS PACIENTES	49
5.2	SISTEMA IMUNE E CARGA VIRAL	52
5.3	ALTERAÇÕES BUCAIS	59
5.4	LESÕES ORAIS	60
5.4.1	Citologia clínica	65
5.5	AVALIAÇÃO FÍSICA E CITOLOGIA CLÍNICA	68
5.6	LESÕES ORAIS E IMUNIDADE	69
6	DISCUSSÃO	70
6.1	PERFIL DOS PACIENTES	71
6.2	SISTEMA IMUNE E CARGA VIRAL	72
6.3	ADESÃO AO TARV E A IMUNIDADE	73
6.4	LESÕES ORAIS E IMUNIDADE	74
6.5	CITOLOGIA CLÍNICA	75
6.6	A CLÍNICA ALIADA À CITOLOGIA	76
	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	79
	ANEXO I – CONDIÇÕES DEFINIDORAS DA AIDS	86
	ANEXO II – APROVAÇÃO DO CEP	87
	ANEXO III – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	90
	ANEXO IV – FICHA CLÍNICA DO PACIENTE	92

ANEXO V – BULA DO KIT DE CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO	94
ANEXO VI – BULA DO CONJUNTO DE COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU....	101

1 INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana ou *Human immunodeficiency virus* (HIV), identificado e descrito em 1984, é um retrovírus da família dos lentivírus. Sua infecção é considerada como a causadora das manifestações da Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida, mais conhecida como *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS), principal responsável pela morte dos portadores do vírus (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 2005; INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Virology Division, 2012).

Segundo a *Joint United Nations Programme on HIV/AIDS* (Unaid) (2011), no final da última década, o número aproximado de portadores do vírus HIV no mundo era de 34 milhões de pessoas, o que significa um aumento de 17% em relação ao início de 2001. Este fato se correlaciona com a grande difusão do tratamento contra o HIV, que beneficia um grande número de pacientes, permitindo sobrevida maior e reduzindo as mortes relacionadas à AIDS.

Na América Latina, da mesma forma, o número de pacientes portadores do vírus está em contínuo crescimento, porém o número de novas infecções permanece estável desde o início do milênio (UNAIDS, 2011).

No Brasil, em 2001, o número de portadores de HIV era de cerca de 600 mil e o de novas infecções também permanece estável, seguindo a lógica do que acontece na América Latina, mostrando a eficácia do sistema de prevenção e tratamento gratuito brasileiro (BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, 2001).

Mesmo com esses dados favoráveis, é de interesse geral que novas estratégias sejam exploradas e aplicadas para que esses números sejam melhores. Qualquer ação, seja ela preventiva ou paliativa, pode ajudar o sistema de saúde beneficiando toda a população, o paciente individualmente e, ainda, reduzindo os gastos do governo com saúde. No Brasil, por exemplo, no ano de 2008, o gasto foi de aproximadamente 1,1 bilhão de reais, com o Programa Nacional de AIDS (atual Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais) do Ministério da Saúde (UNAIDS, 2011).

Uma forma de reduzir a transmissão e o número de mortes causadas pela AIDS é com a utilização do tratamento precoce, logo na detecção da presença do

HIV. Severe *et al.* (2010) demonstraram que, quando o início do tratamento com antirretrovirais é iniciado com a contagem de linfócitos T CD4+ entre 200 e 350 células/ μ L, o número de mortes diminuiu em até 75% e a incidência da tuberculose caiu em 50% dos casos, se comparado aos pacientes que iniciam o tratamento com a contagem de linfócitos T CD4+ com valores abaixo de 200 células/ μ L.

O principal problema no Brasil é o diagnóstico tardio. Cerca de 718 mil brasileiros são portadores do vírus HIV, mas presume-se que em torno de 20% ainda não foram diagnosticados. Muitas pessoas procuram ajuda quando já estão doentes ou com os níveis de linfócitos T CD4+ bastante baixos e a maioria dos pacientes descobre o HIV quando procura o serviço de saúde em razão de outra doença (BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, 2013d).

Conforme o estudo de Severe *et al.* (2010), qualquer indício que uma pessoa seja portadora do vírus e que possa levá-la a fazer o tratamento na época certa, ou seja, precocemente, leva a uma melhora no prognóstico destes pacientes.

A detecção de marcadores para HIV/AIDS sempre foi alvo de novas pesquisas. Alguns deles, como lesões orais, são fáceis de identificar e auxiliam na detecção da imunossupressão (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; WALLING, 2000; PATTON, 2002). Miziara e colaboradores (2004) estudaram 124 pacientes HIV positivos e conseguiram relacionar a presença de duas lesões: Candidíase Oral (CO) e Leucoplasia Pilosa Oral (LP), com a diminuição na contagem de linfócitos T CD4+ e aumento na carga viral sérica.

Com base na preocupação em detectar a instalação da imunossupressão em indivíduos HIV positivos e a piora do quadro clínico em pacientes com AIDS, este estudo visa avaliar a capacidade de detecção do exame citológico oral na presença de LP e CO, em relação ao exame físico realizado em consultório odontológico, considerando-se o tipo de tratamento recebido. Assim, a detecção das lesões poderia levar à proposição na realização de exames preventivos em pacientes HIV positivos e em pessoas do grupo de risco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AS PRIMEIRAS DESCOBERTAS SOBRE HIV/AIDS

No início da década de 80, a revista norte-americana *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR) publicou o que foi considerado o primeiro relato sobre o surgimento da AIDS no mundo. Em Los Angeles, 5 casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (PCP) em homossexuais homens intrigou os profissionais do Centro de Controle e Prevenção de Doenças americano (CDC - *Center for Diseases Control and Prevention*), por se tratar de uma doença típica de pacientes com câncer ou com outras condições que causam imunossupressão, o que não condizia com a condição de saúde dos pacientes citados. Pouco tempo após essa comunicação, outros casos de infecções oportunistas e alguns casos de sarcoma de Kaposi em pacientes jovens também foram relatados (CURRAN; JAFFE, 2011).

Com essas descobertas, o CDC formou uma força tarefa para averiguar e estabelecer uma definição de caso para os relatos citados. Definiu-se que os critérios de avaliação deveriam ser: biópsia para sarcoma de Kaposi positivo em pacientes com idade inferior a 60 anos, ou cultura positiva para qualquer infecção oportunista, juntamente com ausência de explicação para o ocorrido ou histórico de qualquer tipo de terapia que reduzisse a imunidade do paciente. Estes requisitos foram posteriormente adotados mundialmente para a definição de caso dessa nova doença que, mais tarde, viria a ser conhecida como AIDS (CURRAN; JAFFE, 2011).

No final de 1981, nos Estados Unidos, já haviam sido relatados 159 casos de infecções oportunistas e sarcoma de Kaposi, sendo o caso mais antigo detectado no ano de 1978 (CDC, 1982b). Os estudos epidemiológicos demonstravam claramente uma evolução mensal desde o surgimento da doença. Em 6 meses, estava evidente que uma epidemia local e de alto-risco estava se instalando nos Estados Unidos, ficando claro que os casos relatados das infecções oportunistas e do sarcoma de Kaposi eram consequência da imunossupressão causada por alguma outra doença (CURRAN; JAFFE, 2011).

Em 1982, estudos de casos-controle de homossexuais foram realizados pelo CDC e a conclusão foi de que os pacientes infectados eram sexualmente mais

ativos do que seus controles (JAFJE *et al.*, 1983; ROGERS *et al.*, 1983). Em outros estudos, buscou-se uma ligação entre os casos positivos de locais diferentes, observando-se que em alguns destes casos houve contato sexual com outro paciente que também apresentava a nova síndrome, que mais tarde veio a ser conhecida como AIDS, sugerindo a possibilidade de transmissão sexual (CDC, 1982a; AUERBACH *et al.* 1984; CURRAN; JAFJE, 2011).

Nesta época, foram relatados, também, casos de PCP em pacientes que recebiam transfusões sanguíneas, em crianças e em mulheres que tinham parceiros sexuais, que passaram a fazer parte de um grupo de risco para AIDS. Todas essas informações corroboravam fortemente que a nova síndrome era causada por um agente infeccioso que podia ser transmitido por via sanguínea, de mãe para filho durante a gravidez, por transfusões e também por contatos sexuais, fossem eles hetero ou homossexuais (CURRAN; JAFJE, 2011).

2.2 AIDS NO BRASIL

No começo da epidemia, em maio de 1985, foi criado o primeiro programa de AIDS no Brasil, quando existiam apenas 4 casos relatados no país. Os primeiros medicamentos distribuídos eram para combater as infecções oportunistas e o programa era mais focado em vigilância sanitária, mensagens de advertência e assistência médica. Na década de 90, os antirretrovirais começaram a fazer parte da estratégia de distribuição no programa de AIDS. Desde 1996 o Tratamento Antirretroviral Altamente Ativo (HAART, *Highly Active Anti Retroviral Treatment*), associação de medicamentos antirretrovirais, entrou na lista dos medicamentos disponíveis para pacientes HIV positivos (TEIXEIRA; VITÓRIA; BARCAROLO, 2004). No Brasil, o tratamento na forma combinada tripla é amplamente empregado, utilizando-se o termo Tratamento Antirretroviral ou Terapia Antirretroviral (TARV). Em 2002, o Programa Nacional de Controle da AIDS já contava com 375 hospitais credenciados e vários outros módulos de saúde especializados na atenção desses pacientes, cobrindo uma boa parte do território nacional (LEVI; VITÓRIA, 2002).

Paralelamente ao serviço de distribuição, o Programa Nacional de Controle de AIDS estabeleceu uma estratégia para credenciamento dos laboratórios

responsáveis pela realização de exames essenciais. Os principais exames realizados eram contagem de linfócitos T CD4+, linfócitos T CD8+ e quantificação da carga viral no plasma sanguíneo. Em 2002, o Brasil já dispunha de 80 laboratórios credenciados realizando contagem de linfócitos e 65, dosagem da carga viral, além de poder contar com um programa nacional de controle de qualidade externo, estabelecido com ajuda internacional (LEVI; VITÓRIA, 2002).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

A AIDS se tornou uma doença mundialmente conhecida, tornando-se um problema para todos os continentes, devido à grande disseminação que se seguiu a sua descoberta. No ano de 2002, o número de pessoas infectadas pelo HIV chegou a cerca de 60 milhões e o somatório de mortes até então atingiu cerca de 20 milhões. O continente mais atingido foi a África, com 70% do número de infectados (KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005).

Estudos epidemiológicos demonstram que o principal grupo de risco, responsável por mais de 50% dos casos relatados, é o de homens homo ou bissexuais, seguido pelo de usuários de drogas injetáveis, com cerca de 25% dos casos. Os heterossexuais parceiros de alguma pessoa pertencente a outro grupo de risco correspondem a 10% do número de casos. Em último lugar está o grupo de receptores de sangue ou outro componente sanguíneo, incluindo hemofílicos, que totalizam aproximadamente 1,5% do número de pacientes com a doença. Apesar de esses dados apresentarem maior número de casos entre os homo e bissexuais, atualmente o maior número de novos casos deve-se ao contato sexual entre heterossexuais (KUMAR; ABBAS e FAUSTO, 2005).

2.4 O HIV

O retrovírus HIV é o agente responsável pelo aparecimento da AIDS em seu portador. Este vírus pode ser classificado em 2 subtipos mais conhecidos, o HIV-1 e

o HIV-2. Pertencente à família *retroviridae*, o HIV foi isolado em pacientes com AIDS, sendo o tipo 1 mais frequente na América, Europa e África Central, enquanto o tipo 2 é mais comum na África Ocidental e na Índia (KNIPE; HOWLEY, 2001; TRABULSI; ALTERTHUM, 2004; KUMAR, ABBAS; FAUSTO, 2005).

O HIV apresenta estrutura esférica, que mede entre 100 a 120 nm de diâmetro, com cerne em formato de cone, envolto por uma bicamada lipídica provinda da célula parasitada, no interior do qual há duas cópias do RNA juntamente com três enzimas virais, protease, transcriptase reversa e integrase. Na estrutura do cerne encontra-se o antígeno mais fácil de ser detectado, o p24, alvo de exames por enzima-imunoensaio (ELISA). Os outros alvos de exames laboratoriais são as glicoproteínas do envelope viral (gp160, gp120 e gp41) e as demais proteínas estruturais ou enzimais (p17, p31, p51, p55 e p66) (FRANKEL; YOUNG, 1998; KNIPE; HOWLEY, 2001; TRABULSI; ALTERTHUM, 2004; KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005; BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e hepatites virais, 2013b).

Deve-se destacar também que o HIV possui uma grande variabilidade no seu genoma, principalmente na parte responsável pela síntese de glicoproteínas constituintes do invólucro viral, principal alvo da resposta imune contra o HIV. Tal variabilidade tem impedido as tentativas de criar com sucesso uma vacina anti-HIV até o momento (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

A transmissão do HIV pode ocorrer de várias formas: contato sexual, contato sanguíneo, seja por transfusão ou outra forma, reutilização de materiais contaminados ou compartilhamento de agulhas, bem como transmissão vertical de mãe para filho (TRABULSI; ALTERTHUM, 2004). Para todos os casos, a transmissão ocorrerá somente quando houver troca de fluidos corporais contendo o vírus ou células infectadas pelo vírus. Doenças concomitantes, que possam causar lesões nas mucosas, podem afetar a forma de transmissão, aumentando as chances do contágio através do contato sexual. Quando ocorre o contato, essa transmissão pode ser explicada de duas formas: ou o vírus entra em contato direto com a corrente sanguínea, ou com células dendríticas e linfócitos T CD4+ presentes na mucosa. Doenças que causam inflamação também parecem estar diretamente ligadas com maior probabilidade de contágio, por aumentar o número de células inflamatórias no local e células infectadas na corrente sanguínea (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

2.4.1 Infecção e replicação viral

Grande parte das infecções ocorre através do contato sexual direto. Durante a fase aguda da infecção vários tipos celulares são infectados pelo vírus, dentre eles estão os monócitos/macrófagos, células dendríticas e linfócitos T CD4+. Essas células são alvo da gp120 que reconhece e se acopla a proteínas CD4 expressas na superfície dessas células (PEDERSEN, 1989; PARHAM, 2009; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013b).

Dentro da célula infectada, o retrovírus traduz seu genoma de RNA em DNA com auxílio da transcriptase reversa. Em sequência, a enzima integrase acopla o DNA no genoma da célula hospedeira. A replicação viral se dá com as próprias proteínas da célula hospedeira, que fica responsável pela produção das proteínas virais do RNA. Na sequência, esse material se organiza novamente formando uma nova partícula viral (PARHAM, 2009).

Após o contágio há o período chamado de fase eclipse, que corresponde ao intervalo da infecção, até a detecção por um teste virológico ultrasensível, atualmente, cerca de 10 dias. Uma parte considerável das transmissões tem um único linfócito contaminado e a disseminação é facilitada pelo sistema imune que envia mais linfócitos ao local devido à infecção (PEDERSEN, 1989; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013b).

A principal consideração que deve ser feita é que a AIDS é causada pelo HIV em decorrência da depleção progressiva dos linfócitos T CD4+ que o vírus causa, apesar dos linfócitos T CD8+ presentes no controle da infecção. As principais alterações no organismo são: imunodepressão severa, aparecimento de neoplasias, alterações neurológicas e infecções oportunistas (KUMAR; ABBAS; FAUSTO, 2005).

2.5 EVOLUÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA

Após o contato com o vírus, os pacientes infectados passam pela fase aguda da doença, que dura algumas semanas, na qual não há manifestação da AIDS. É um período de alta viremia e o indivíduo torna-se extremamente infectante.

Essa fase dura aproximadamente 4 semanas e pode ser acompanhada pela Síndrome Retroviral Aguda (SRA), manifestada entre a 1ª e a 3ª semana (BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e hepatites virais, 2013a).

Segundo o Ministério da Saúde (2013a, p. 11), “Os principais achados clínicos de SRA incluem febre, adenopatia, faringite, exantema, mialgia e cefaleia. A SRA pode cursar com febre alta, sudorese e linfadenomegalia, comprometendo principalmente as cadeias [linfáticas], cervical anterior e posterior, submandibular, occipital e axilar”. Outros sintomas podem ocorrer e a maior parte deles desaparece em 3 a 4 semanas.

Esse é o melhor momento para a detecção da infecção pelo HIV, porém, com sintomas muito semelhantes a outras infecções virais, deixa de ser diagnosticada. Nos Estados Unidos, mais de 90% dos casos agudos de HIV não são diagnosticados, mesmo com mais de 50% desses sendo sintomáticos. DAAR *et al.* (2001) realizaram testes em infecções primárias agudas por HIV por 2 métodos, detecção de antígenos da proteína p24 e ensaios de detecção no plasma de RNA viral (contagem de carga viral sérica). Os pacientes estudados foram aqueles que apresentaram ELISA negativo e Western blot indeterminado. De 436 pacientes, 48 apresentaram a proteína p24 no plasma, cerca de 11% dos casos. Enquanto isso, em 54 pacientes, observou-se a detecção de RNA viral acima do limite mínimo de detecção. O teste para antígenos p24 tem menor sensibilidade do que a contagem de carga sérica viral através de métodos biomoleculares, apesar de esta apresentar casos falso-positivos (DAAR *et al.*, 2001; FLANIGAN; TASHIMA, 2001; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

O principal problema da fase SRA é que o indivíduo se torna um transmissor em potencial do HIV. No trabalho supracitado, em que exames de ELISA e Western blot apresentaram resultado negativo e indeterminado, a contagem da carga viral sérica dos pacientes verdadeiros positivos foi acima de 100.000 cópias/mL, um valor extremamente alto, facilitador da transmissão do HIV. Apesar de a contagem da carga viral sérica, que utiliza PCR como método, ter se mostrado mais sensível, o custo e a especificidade, de apenas 97,4% na detecção do HIV, em uma população muito grande e com baixa incidência de casos de infecções primárias, inviabilizam sua utilização (DAAR *et al.*, 2001; FLANINGAN; TASHIMA, 2001).

Após a SRA, o paciente passa pela fase de latência clínica, seguida de agravamento progressivo da infecção. Nesse período, a contagem de linfócitos T CD4+

diminui lentamente. Enquanto a contagem permanece acima de 350 células/ μ L, as infecções mais comuns são bacterianas e geralmente respiratórias. No decorrer da evolução clínica da doença, as infecções se agravam e os sintomas constitucionais (febre, perda de peso, sudorese noturna e fadiga) e diarreia crônica começam a surgir, juntamente com o aparecimento das lesões orais, CO e LP, além de Herpes-Zoster. Dados demonstram que isso ocorre quando a contagem de linfócitos T CD4+ está situada entre 200 e 300 células/ μ L. Quando a contagem está abaixo de 200 células/ μ L, as manifestações neoplásicas começam a ser mais frequentes. As mais comuns são sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e câncer do colo uterino. Em adultos saudáveis, esse valor varia entre 800 a 1.200 células/ μ L (PEDERSEN, 1989; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Como evento definidor para o desenvolvimento da AIDS, temos critérios a serem observados. O atual Manual do Ministério da Saúde não os cita em sua última versão. Os dados mais recentes encontrados contendo essa definição, assim como para o estagiamento da doença, foram retirados da revista do CDC americano MMWR (Quadro 1) (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Classificação de caso	
Estágio 1	Nenhuma doença definidora de AIDS*, contagem de linfócitos T CD4+ \geq 500 células/ μ L e % de linfócitos T CD4+ \geq 29.
Estágio 2	Nenhuma doença definidora de AIDS*, com contagem de linfócitos T CD4+ entre 200 e 499 células/ μ L ou % de linfócitos T CD4+ entre 14 e 28.
Estágio3 – AIDS	Contagem de linfócitos T CD4+ <200 células/ μ L, ou % de linfócitos T CD4+ <14, ou prova documentada de doença definidora de AIDS*.
Estágio desconhecido	Sem informações sobre contagem ou % de linfócitos T CD4+ e falta de informações sobre doenças definidoras de AIDS*.

QUADRO 1 - ESTAGIAMENTO DA PROGRESSÃO DA INFECÇÃO POR HIV

FONTE: CDC, 2008.

NOTA: *Doenças definidoras da Aids segundo o CDC (2008) em anexo (Anexo I).

2.6 DIAGNÓSTICO E ACHADOS LABORATORIAIS

A primeira Portaria a reger a qualidade e detecção do HIV no Brasil foi a de Nº 59/2003 do Ministério da Saúde. Nela são descritas 3 etapas para a detecção do vírus obrigatórias para todos laboratórios que realizam o exame: triagem sorológica

(imunoensaio); confirmação sorológica por meio de realização de um segundo imunoensaio, com metodologia diferente do primeiro, em paralelo ao teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para o HIV-1 ou ao teste de Imunoblot para HIV, podendo-se optar por passar diretamente à terceira etapa, e confirmação sorológica pelo teste de Western blot (BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Legislação da Saúde, 2003).

Atualmente, a Portaria que está em vigor é a de Nº 29/2013, do Ministério da Saúde, a qual, após atualização e adequação, apenas aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças, ao invés de citar como é feito. A responsabilidade da criação de tal manual é do Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais e, segundo a portaria, sua revisão deve ser realizada a cada 6 meses pelo mesmo departamento (BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Legislação da Saúde, 2013c).

O último manual foi liberado em dezembro de 2013. Nele, há a descrição de todos os ensaios utilizados na detecção do HIV. Com 4 gerações de testes clínicos, o próprio manual afirma ser difícil impor um fluxograma rígido aos laboratórios. Por exemplo, para laboratórios pequenos, redes de saúde sem infraestrutura, programas no Ministério da Saúde, dentre outros, é recomendada a realização de dois testes rápidos de metodologias diferentes. Em caso de positividade, o paciente é encaminhado a um laboratório designado para realizar a quantificação de carga viral. Uma variação para esse fluxograma é a utilização do primeiro teste rápido com amostra de fluido oral. Os outros 2 fluxogramas são recomendados para laboratórios de grande porte, que realizam mais de 5 exames de HIV por dia, e neles são utilizados imunoensaios de 3ª ou 4ª geração na triagem e, na etapa 2, para confirmação, é realizado um teste molecular de detecção de cópias virais. Em casos de discordância, utiliza-se o teste de western blot, imunoblot ou imunoblot rápido para fechar o resultado (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013b).

Para a detecção do HIV pelo método de imunoensaio, a chamada janela imunológica é de 3 a 4 semanas, mas o termo mais atual para designar essa fase da infecção é janela diagnóstica. No entanto, o tempo da janela diagnóstica dependerá da metodologia utilizada para detecção da infecção (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013b).

Tanto na fase aguda, como na fase de latência, os fatores indicativos de inflamação encontram-se elevados nos exames laboratoriais. Assim, são

encontrados níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, proteína C reativa e dímero D. Pacientes em TARV regular podem apresentar valores desses exames reduzidos quando comparados a indivíduos que não fazem o tratamento (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Os exames de contagem de linfócitos T CD4+ e dosagem de carga viral sérica devem ser repetidos de 6 em 6 meses. Em caso de início ou troca de TARV, repetir a carga viral 2-3 meses após o início da nova estratégia de tratamento.

A investigação da tuberculose deve ser realizada em todas as consultas e a realização da prova tuberculínica é recomendada para averiguar a presença de infecção latente, recomendando-se que ela seja repetida anualmente (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

2.7 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL

O uso de medicamentos para terapia contra o aparecimento da AIDS surgiu em 1987, com o início do emprego dos inibidores de transcriptase reversa. Contudo, o grande avanço feito nessa área somente foi alcançado após o desenvolvimento dos inibidores de proteases (DOURADO *et al.*, 2006).

Segundo o Ministério da Saúde – Departamento de DST, Aids e Hepatites virais (2014) –, desde 1996, o Brasil distribui gratuitamente o coquetel antiaids para quem necessita do tratamento. Em 2012, eram 313 mil pessoas recebendo regularmente o coquetel. Atualmente, são 21 os medicamentos distribuídos, pertencentes às seguintes classes: inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa, inibidores de protease, inibidores de fusão e inibidores da integrase. Exemplos e explicações sobre os mecanismos de ação estão contidos no Quadro 2.

As recomendações para o início do TARV tem sido alvo de constantes mudanças. Desde os primeiros medicamentos, a cada nova geração de drogas aprovadas, os esquemas de tratamentos são estudados e readaptados. No final de 2013, foi publicada a versão mais atualizada do “Protocolo Clínico e de Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos” pelo Departamento de DST, Aids e Hepatites virais (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Classe	Mecanismo de ação	Princípio ativo
Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa	Atuam na enzima transcriptase reversa, incorporando-se à cadeia de DNA que o vírus cria. Tornam essa cadeia defeituosa, impedindo que o vírus se reproduza.	Abacavir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina e combinação Lamivudina/Zidovudina
Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa	Bloqueiam diretamente a ação da enzima e a multiplicação do vírus.	Efavirenz, Nevirapina e Etravirina
Inibidores de Protease	Atuam na enzima protease, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV.	Atazanavir, Darunavir, Fosamprenavir, Indinavir, Lopinavir/r, Nelfinavir, Ritonavir, Saquinavir e Tipranavir
Inibidores de fusão ou de entrada	Impedem a entrada do vírus na célula e, por isso, ele não pode se reproduzir.	Enfuvirtida
Inibidores da Integrase	Bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do HIV ao DNA humano (código genético da célula). Assim, inibem a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células.	Raltegravir

QUADRO 2 – CLASSES DE MEDICAMENTOS ANTIRRETROVIRAIS DISTRIBUÍDOS PELO SUS
 FONTE: BRASIL. Ministério da Saúde – Departamento de DST, Aids e Hepatites virais (2014)
 NOTA: Descrição das classes, mecanismos de ação e nome do princípio ativo dos antirretrovirais.

Tendo em vista que pacientes com contagem de linfócitos T CD4+ acima de 500 células/ μ L e com dosagem de carga viral indetectável possuem expectativa de vida igual à população geral quando utilizam TARV regularmente, o Manual atualizado do Ministério da Saúde recomenda estimular o início imediato do tratamento considerando a motivação do paciente. A pessoa deve ser esclarecida que dados científicos atuais demonstram os benefícios, mas não são indícios conclusivos, também não deverá haver imposição para o início. Para pacientes sintomáticos, ou com contagem de linfócitos T CD4+ abaixo de 500 células/ μ L, ou com coinfeções e neoplasias, ou gestantes, as recomendações a serem seguidas constam no Quadro 3 (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Um dos focos mais importantes trabalhados com os pacientes é sobre a adesão ao tratamento. Para considerar que um paciente aderiu ao tratamento, alguns quesitos devem ser cumpridos: comparecer a todas as consultas, realizar os exames nas datas corretas, tomar a dose certa na hora indicada e a retirada dos medicamentos, se for o caso, deve ser realizada em uma data específica, após análise da equipe multidisciplinar (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

Sintomáticos (incluindo tuberculose ativa), independentemente da contagem de CD4	
Iniciar TARV	
Assintomáticos	
Linfócitos T CD4+ ≤500 células/μL	Iniciar TARV
Linfócitos T CD4+ >500 células/μL	Iniciar TARV na coinfeção HIV-HBV com indicação de tratamento para hepatite B. Considerar TARV nas seguintes situações: <ul style="list-style-type: none"> • neoplasias não definidoras de aids com indicação de quimioterapia ou radioterapia; • doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular elevado; • coinfeção HIV-HCV; • carga viral do HIV acima de 100.000 cópias/mL.
Sem contagem de linfócitos T CD4+ disponível	Na impossibilidade de se obter contagem de linfócitos T CD4+, não se deve adiar o início do tratamento.
Gestantes	
Iniciar TARV	

QUADRO 3 – ESQUEMA DE INÍCIO DO TARV EM PACIENTES HIV/AIDS RECOMENDADO PELO DEPARTAMENTO DE DST, AIDS E HEPATITES VIRAIS
FONTE: BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites virais (2013a)

O início do tratamento deve ser feito sempre combinando 3 medicamentos, sendo dois inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa com um inibidor não nucleosídeo de transcriptase reversa ou um inibidor de protease complementado com ritonavir. Em caso de falha terapêutica, uma nova estratégia, com outros medicamentos, deve ser estudada para o paciente em questão. A falha terapêutica ocorre principalmente na falta de adesão ao tratamento, quebras de comprimido ou interações medicamentosas, resistência viral ou prescrição terapêutica inadequada. Vale ressaltar que o principal parâmetro para a caracterização da falha terapêutica é o aumento da dosagem da carga viral acima do limite mínimo detectável para aqueles pacientes que já haviam atingido esse nível. A contagem de linfócitos T CD4+ pode estar baixa mesmo com uma boa adesão, e isso acontece principalmente pela demora no início do TARV. Nesses casos, mesmo sem a reconstituição do sistema imune, o indivíduo tem os benefícios protetores da supressão viral (BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e Aids, 2008, 2013a).

Após o início do tratamento, os 6 primeiros meses são os mais importantes. Geralmente, em pacientes que aderem ao TARV, há uma melhora clínica e imunológica, além da diminuição da carga viral. Na maior parte dos indivíduos, o início do tratamento significa uma elevação na contagem de linfócitos T CD4+, que

se prolonga durante um ano até a estabilização. Porém, a mortalidade é maior nesse período, especialmente para pacientes que iniciam o tratamento com sinais graves da doença, ou seja, com níveis baixos de linfócitos T CD4+ e alta carga viral. Há ainda a chance de ocorrer, principalmente nos 3 primeiros meses, uma hipersensibilidade às drogas do coquetel antirretroviral (BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

O Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais recomenda ainda o início de tratamento de profilaxia em hipótese de contaminação. Nesses casos, o tratamento deve ser iniciado em até 72 horas após a exposição. O esquema adotado recomendado deve ser feito com zidovudina + lamivudina + tenofovir. Pode-se substituir o tenofovir por lopinavir complementado com ritonavir (BRASIL. Ministério da Saúde, 2010).

2.8 ESTOMATOLOGIA

A estomatologia é um termo derivado do grego (stoma, stomus=boca; logos=estudo, conhecimento), portanto, estudo da boca. Reconhecida pelo Conselho Regional de Odontologia desde 1992, é uma especialização que tem como premissa a detecção de doenças e o seu diagnóstico através de exames clínicos. Divididos em 2 partes, os exames são compostos por anamnese e exame físico do paciente. Há ainda métodos complementares, como exames laboratoriais, para auxiliar no melhor diagnóstico (CASTRO, 1992; MARCUCCI, 2005; PINTO, 2014).

A anamnese é uma importante parte do exame clínico. Nela são levantados dados sobre o paciente, obtidos diretamente com o mesmo ou com terceiros. Informações sobre tratamentos anteriores, alergias, motivos da consulta, história médica, dentre outros são anotadas e avaliadas pelo profissional. A partir da anamnese se segue o exame físico, o qual é focado nas estruturas bucais e nos órgãos anexos da boca. Quaisquer alterações são sinais de que o profissional deve ficar atento para concluir o diagnóstico clínico e, se necessário, solicitar exames complementares para fazer o diagnóstico definitivo (CASTRO, 1992; MARCUCCI, 2005).

2.8.1 Alterações encontradas na boca e órgãos anexos

Para a investigação e conclusão satisfatória do diagnóstico, o profissional utiliza da semiologia, que é a observação dos sinais e sintomas da boca e órgãos anexos.

Cada alteração é anotada e será levada em conta na hora de decidir quais serão os próximos passos a serem tomados. No Quadro 4 são descritas algumas alterações encontradas durante o exame físico.

2.9.1 Candidíase oral

A *Candida albicans* é, dentre os fungos, o patógeno mais encontrado nos humanos. A Candidíase^{1,2} é uma infecção considerada oportunista, e ocorre quando há o crescimento exacerbado do fungo *Candida* sp. em regiões do corpo onde mais se desenvolve, como, por exemplo, na boca ou no canal vaginal. Aproximadamente 70% das mulheres já tiveram infecções vaginais causadas por *Candida* spp. e, na cavidade oral, a candidíase é a infecção fúngica mais comumente encontrada (EDWARDS, 1990; YANG, 2003; GIANNINI; SHETTY, 2011; KRISHNA; ZEMSE; DEROSI, 2011).

A habilidade de migrar entre a forma de levedura e a forma filamentosa é um dos seus principais fatores de virulência. Duas são suas formas filamentosas. A forma de pseudo-hifa ocorre quando a célula mãe não consegue se separar da célula filha após a divisão celular. A forma filamentosa de hifa, que ocorre quando o fungo infecta tecidos, é caracterizada por longas estruturas em formato tubular com septos separando as células, porém essas separações não são distintas na área da divisão (LO *et al.*, 1997; YANG, 2003; GOLDMAN; SCHAFER, 2012).

¹ Há controvérsias sobre o uso do termo candidíase ou candidose, principalmente na área da odontologia. Ambos são empregados e aceitos. Essa diferença é baseada na localização geográfica da terminologia, onde candidíase é um termo americano e candidose é um termo essencialmente europeu (LYNCH; MEMPHIS, 1994).

² Por convenção, neste trabalho, optou-se por utilizar os termos, candidíase, candidíase oral, candidíase pseudomembranosa e candidíase eritematosa.

ALTERAÇÕES BUCAIS	
TERMO UTILIZADO	DESCRIÇÃO
ERITEMA GENGIVAL LINEAR	Borda linear de eritema envolvendo gengiva marginal livre até 2-3 mm no sentido apical. Não responde ao controle rígido de placa bacteriana. Resposta imune anormal à bactéria subgengival ou uma variante da candidíase. Tratamento com remoção de placa, bochecho com clorexidina, antifúngicos.
ESTOMATITE NICOTÍNICA	Alteração branca generalizada do palato, que parece ser uma resposta ao calor do fumo. Tem baixo potencial de transformação maligna. Parece ser uma variante da leucoplasia (lesão pré-cancerígena).
HIPERCERATOSE REACIONAL	Espessamento da camada de ceratina epitelial oriunda de trauma/ agente agressor. Região esbranquiçada.
HIPERPLASIA FIBROSA	Hiperplasia reacional do tecido conjuntivo em resposta à irritação local ou trauma. Mais comum na mucosa jugal na linha de oclusão. Pode ser caracterizado como um nódulo rosa, superfície lisa, cor da mucosa adjacente, tamanho variável, assintomático, a menos que tenha ulceração traumática secundária. Seu tratamento consiste na excisão cirúrgica.
LEUCOEDEMA	Condição benigna, bilateral, na mucosa jugal geralmente de cor esbranquiçada ou branco-acinzentada. Comum em fumantes.
LÍQUEN PLANO	Desordem mucocutânea imunologicamente mediada. Aparecimento relacionado a medicamentos, materiais estranhos, hepatite C, estresse. Pode estar associado a lesões malignas. Líquen plano reticular e líquen plano erosivo (com ulceração, sintomática). Não é necessário tratamento, a menos que com sintomatologia.
MELANOSE DO FUMANTE	Pigmentação por melanina em pacientes fumantes, localizada em palato, lábio, comissura. Tende a desaparecer em um período acima de três anos após interrupção do fumo.
MESIODENTE	Dente supranumerário na região de incisivos superiores.
PERIODONTITE	Doença inflamatória localizada do periodonto, tecido de suporte do dente que promove reabsorção óssea, perda de inserção e mobilidade dentária.
QUEILITE ANGULAR	Tipo de candidíase localizado no ângulo da boca, caracterizado por eritema, fissuração e descamação.
RAIZ RESIDUAL	Fragmento ou parte de raiz de dente remanescente no alvéolo dentário por carie, trauma ou impossibilidade de extração.
SARCOMA DE KAPOSÍ	Neoplasia vascular, associado ao herpes humano tipo 8. Associado a pacientes portadores de HIV.
ÚLCERAS	Solução de continuidade epitelial com exposição de tecido conjuntivo, extremamente sensível à dor. Causado por trauma, ou resposta imunológica.
VESÍCULAS	Elevações do epitélio contendo líquido no seu interior, que não ultrapassam 3 mm, podem ser múltiplas ou agrupadas. Raramente encontradas íntegras na mucosa. Se ultrapassar 3 mm, pode ser considerada bolha.

QUADRO 4 - DESCRIÇÃO DE ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NA BOCA E EM ÓRGÃOS ANEXOS
FONTE: Adaptação NEVILLE *et al.* (2009), CASTRO (1992)

A Candidíase Oral (CO) é a manifestação oral mais comum em pacientes imunossuprimidos e está altamente associada às infecções pelo HIV. Sua prevalência pode chegar a 94% nos adultos infectados, mas esse número é bastante reduzido quando o paciente utiliza o TARV. O principal agente etiológico dessa doença é o fungo *Candida albicans*, porém, outras espécies de candida, como a *Candida glabrata* e a *Candida tropicalis*, podem estar envolvidas no processo (VILLAÇA; MACHADO, 2004; GIANNINI; SHETTY, 2011; KRISHNA; ZEMSE; DEROSI, 2011; VASELIU; KAMIRU; KABUE, 2011).

A CO pode ser classificada como pseudomembranosa ou eritematosa. A candidíase pseudomembranosa é caracterizada pela presença de placas brancas acinzentadas compostas de tecido e restos inflamatórios com fungos em uma base eritematosa. A lesão é evidenciada principalmente na língua, na mucosa oral, nos palatos duro e mole e em tecidos da faringe (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; GIANNINI; SHETTY, 2011; KRISHNA, ZEMSE; DEROSI, 2011). A candidíase eritematosa se caracteriza por uma hiperemia na mucosa oral, além da presença de estrias avermelhadas. A mucosa se apresenta seca, avermelhada e com aspecto vítreo, como se houvesse uma película sobre a mucosa (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; GIANNINI; SHETTY, 2011; KRISHNA, ZEMSE; DEROSI, 2011). Em relação às manifestações clínicas, a candidíase pode ser assintomática, ou apresentar sensações de queimadura e gosto metálico (GIANNINI; SHETTY, 2011).

2.9.1.1 Diagnóstico de candidíase oral

O diagnóstico da CO é comumente feito baseado em sinais clínicos e, após sua observação, o profissional inicia tratamento antifúngico. Se a lesão responder ao tratamento, fica confirmada que a mesma era por candidíase. Segundo recomendações publicadas pelo Ec-Clearinghouse & WHO (1993), testes para a presença de *Candida* spp. não são essenciais para o diagnóstico, quando utilizados para estudos epidemiológicos e para clínica inicial do paciente (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; GIANNINI; SHETTY, 2011).

São consideradas metodologias adicionais para o diagnóstico de CO: citologia esfoliativa, biópsia e cultura de fungos. A citologia será descrita mais

apropriadamente adiante. A biópsia é realizada após processamento do material em parafina, em cortes finos de 4-6 µm de espessura, depositados em lâminas para microscopia e, em seguida, corados com ácido periódico-Schiff (PAS), sendo positiva se encontradas estruturas no formato de hifa dentre as células do tecido. As culturas são realizadas utilizando-se ágar Sabouraud dextrose, incubadas à 25°C - 30°C, de 48 a 72 horas. A positividade fica indicada pela presença de colônias brancas cremosas e o resultados expresso em unidades formadoras de colônias (UFC) (GIANNINI; SHETTY, 2011).

2.9.2 Leucoplasia pilosa

O vírus Epstein-Barr (EBV), causador da Leucoplasia Pilosa (LP), pertence à família Herpesviridae. Descoberto em 1964 pelos pesquisadores Michael Anthony Epstein, Bert Achong e Yvonne Barr, é conhecido também como herpesvírus humano tipo 4. É um DNA vírus com o genoma linear, possui um envelope lipoproteico e, internamente, o capsídeo viral icosaédrico, semelhante aos outros herpes vírus (EPSTEIN; ACHONG; BARR, 1964; KNIPE; HOWLEY, 2001; INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2012).

A transmissão do vírus ocorre por via oral, contaminando cerca de 95% da população mundial. Em crianças, o contágio com EBV se dá quando levam à boca objetos com saliva contaminada e, geralmente, trata-se de uma infecção assintomática, com características semelhantes às da gripe comum. Em adultos, a transmissão geralmente ocorre através de troca direta de saliva. Quando a infecção se torna sintomática em adultos, é denominada mononucleose infecciosa, provocando cansaço, faringite, linfocitose, linfadenopatia generalizada, quase sempre seguida por esplenomegalia. O tempo de incubação é de 4 a 6 semanas e os sintomas duram entre 2 a 3 semanas (WALLING *et al.*, 1999; HENRY, 2011; SOLOMONS, 2012). Em longo prazo, se instala uma infecção latente que, em condições adequadas, pode se tornar replicativa, sendo a boca o principal reservatório do vírus. A principal causa de a infecção latente se tornar replicativa é a imunossupressão do indivíduo contaminado. Nessas condições, o EBV causa LP (NIEDOBITEK, *et al.*, 1991; WALLING *et al.*, 1999).

Em pacientes HIV positivos, a LP é mais comumente encontrada nos adultos do que nas crianças, sendo que sua presença indica queda na imunidade e pode ser usada como marcador de progressão da infecção pelo HIV (PATTON *et al.*, 2002).

Descrita em 1984 pela pesquisadora Débora Greenspan, a LP tem como apresentação clínica a presença de placas esbranquiçadas com estrias verticais que não se desprendem do tecido. As lesões se localizam principalmente na borda lateral da língua e, em alguns casos, na parte interna da bochecha ou no lábio inferior (GREENSPAN *et al.*, 1984; VASELIU; KAMIRU; KABUE, 2011).

Pesquisadores relatam a existência de fase subclínica da LP, onde o EBV se apresenta em fase replicativa, porém, ainda sem o desenvolvimento da lesão branca clássica, mas cujos efeitos citopáticos podem ser detectados em exames citológicos ou histopatológicos (DIAS, *et al.*, 2000).

2.9.2.1 Diagnóstico da leucoplasia pilosa oral

Existem diferentes opiniões sobre o diagnóstico da LP e controvérsias sobre qual seria a melhor metodologia. Alguns autores defendem que somente as características clínicas já são suficientes para o diagnóstico, principalmente nos casos em que se conhece a soropositividade para HIV no paciente. Outros autores defendem a correlação destes achados com o laudo citológico ou histopatológico. E, por fim, temos a terceira vertente, dos que defendem a utilização da biologia molecular no esclarecimento dos casos (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; GREENSPAN *et al.*, 1998; WALLING, 2000).

A vantagem da citopatologia e histopatologia está na capacidade de se conseguir detectar a fase replicativa do EBV, mesmo sem a manifestação clínica da lesão. Porém, exames com os quais se podem demonstrar a presença do vírus, tanto na fase latente como na replicativa, são: microscopia eletrônica, imuno-histoquímica e métodos moleculares como, por exemplo, hibridização *in situ* ou reação de polimerase em cadeia. Entretanto, há relatos de achados positivos no rastreio de detecção de DNA do EBV por técnicas moleculares, em pacientes que não apresentavam a LP, e sem relação comprovada de positividade com técnicas histopatológicas. Os autores argumentam que achados do DNA do EBV podem não

se correlacionar com o desenvolvimento da lesão (LÖNING *et al.*, 1987; MABRUK, 1995; DIAS, *et al.*, 2000; GULLEY, 2001).

Os critérios utilizados para o diagnóstico mais citados na literatura são os publicados pelo *EC-Clearinghouse on oral problems related to HIV and WHO Collaborating Centre on Oral manifestations of the Immunodeficiency vírus* (EC-CLEARINGHOUSE e WHO, 1993). Após 10 anos, essa classificação foi reavaliada em um workshop internacional, no qual foram discutidas as classificações das lesões orais associadas ao HIV e à AIDS e foi aceito de comum acordo que os critérios expostos pelo *EC-Clearinghouse* e *WHO* permanecem os mesmos (PATTON *et al.*, 2002).

2.10 CITOLOGIA CLÍNICA

O ramo da citologia clínica envolve a análise das células de um tecido específico com a finalidade de rastrear lesões e auxiliar no diagnóstico de doenças não esclarecidas. Apesar de que o exame citológico possa apresentar sensibilidade baixa, novas pesquisas, a introdução da citologia de meio líquido e a possibilidade de realização de análises complementares com o material, aumentam a cada dia a confiabilidade nessa metodologia. A facilidade na realização da análise citológica tem trazido grandes contribuições na detecção de estágios iniciais do câncer em vários órgãos e na identificação de outras patologias (KOSS; MELAMED, 2006; MEHROTRA, 2011).

A grande vantagem da citologia é ser um método simples, geralmente não invasivo e bem aceito pelos pacientes. A coleta do material pode ser realizada pela obtenção de células esfoliadas, ou por raspagem com material abrasivo, ou por punção com agulha fina. O propósito de se empregar métodos abrasivos é enriquecer o material citológico, aumentando o tamanho da amostra pelo atrito do material com o tecido, sendo o melhor método para a citologia oral (KOSS; MELAMED, 2006).

2.11 CITOLOGIA ORAL

A principal finalidade da citologia oral ainda é para a detecção de lesões malignas ou pré-malignas. Entretanto, são várias as pesquisas demonstrando novos focos para a citologia da mucosa oral. Para a realização do exame, amostras citológicas por esfoliação são obtidas em geral com espátulas de madeira ou escovas citológicas, por exemplo, a *cytobrush* e, após fixação e coloração do material, segue-se com a avaliação ao microscópio óptico pelo profissional devidamente qualificado. Para o clínico, a citologia oral pode ser de extrema valia, complementando os achados do exame clínico e auxiliando no diagnóstico final (CARVALHO, 2002; KOSS; MELAMED, 2006; GIANNINI; SHETTY, 2011).

2.11.1 Achados citológicos na candidíase oral

A detecção do fungo observado na amostra biológica é de grande valor diagnóstico. Para tanto, a coleta é crítica para uma boa sensibilidade do método. Para o diagnóstico de candidíase oral, a lesão que traz os melhores achados é a do tipo pseudomembranosa, por conter número maior de fungos filamentosos (BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, 2004; GIANNINI; SHETTY, 2011).

As técnicas microscópicas para o achado de fungos são diversas, incluindo a adição de hidróxido de potássio a 20% na amostra fresca, a utilização de corantes na identificação, como tinta nanquim, coloração de Papanicolaou, coloração de Gram, entre outras técnicas. Independentemente da metodologia utilizada, a indicação da presença de *Candida* spp. é evidenciada quando se observa estruturas no formato de leveduras ou pseudo-hifas na amostra biológica. A levedura é pequena (3-5 µm), encapsulada e ovalada. A pseudo-hifa é alongada, em formato de bambu, geralmente, não é encapsulada, possui cerca de 2 µm de diâmetro, tem comprimento variável e pode possuir ramificações (BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA, 2004; KOSS; MELAMED, 2006; CIBAS; DUCATMAN, 2009; NEVILLE *et al.*, 2009).

2.11.2 Achados citológicos na leucoplasia pilosa

No início da década de 90, Fraga-Fernandez e colaboradores (1990) descreveram as alterações citopáticas induzidas pelo EBV na LP. Baseadas em alterações nucleares – inclusões de Cowdry tipo A; núcleos com aspecto de vidro fosco; núcleos claros com marginalização e aglomeração da cromatina – são específicas e de fácil identificação em citologia de microscopia óptica. Além de ser um método simples, vários autores sugerem ser confiável e com bom custo/efetividade para o diagnóstico da LP (FRAGA-FERNANDEZ; VICANDI-PLAZA, 1992; MIGLIORATI *et al.*, 1993; DIAS *et al.*, 2000).

A inclusão de Cowdry tipo A é descrita como uma inclusão nuclear, normalmente eosinofílica cercada por uma área clara dentro do núcleo, que vai da inclusão até a membrana nuclear. O núcleo com aspecto de vidro fosco pode ser eosinofílico ou basofílico, há uma homogeneização da superfície do núcleo, com marginalização da cromatina. O chamado núcleo em colar é a marginalização da cromatina na membrana nuclear com pontos de aglomeração, associada a uma região central mais clara do núcleo (FRAGA-FERNANDEZ; VICANDI-PLAZA, 1992; MIGLIORATI *et al.*, 1993; DIAS *et al.*, 2000).

2.12 CONSIDERAÇÕES

O correto diagnóstico de lesões como as de CO ou LP é importante, porque podem ser os primeiros sinais da queda da imunidade em pacientes com HIV/AIDS, ou mesmo em portadores de HIV ainda não diagnosticados.

O portador do vírus deve ter a sua detecção realizada o mais cedo possível, para que seu tratamento possa ser iniciado o quanto antes, diminuindo os riscos de complicações causadas pelo vírus e de transmissão.

A LP e a CO são duas lesões frequentes em pacientes HIV/AIDS, incluindo pacientes com AIDS. O maior conhecimento sobre sua relação e incidência nesses pacientes pode auxiliar no diagnóstico precoce e tratamento da doença. Este

trabalho visa comparar exames clínicos e citológicos na detecção dessas lesões em pacientes HIV positivos e, ainda, avaliar o atual estado da imunidade do indivíduo na presença das lesões.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar análise comparativa entre os exames clínico e citológico para a detecção precoce de lesões orais benignas - candidíase oral (CO) e leucoplasia pilosa (LP) - em pacientes portadores de HIV.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar uma população de pacientes portadores do HIV e estabelecer o seu perfil socioeconômico, incluindo dados clínicos;
- b) Realizar exames clínico e citológico da mucosa oral nos pacientes selecionados, em busca de lesões sugestivas de CO e LP;
- c) Determinar a incidência das lesões da mucosa oral detectadas na população analisada;
- d) Comparar os resultados obtidos pelos exames clínico e citológico da mucosa oral quanto ao seu papel no diagnóstico de CO e LP;
- e) Correlacionar os resultados dos exames clínico e citológico com os valores de contagem de linfócitos T CD4+ e de carga viral sérica dos pacientes em estudo, por ocasião da coleta;
- f) Correlacionar o emprego da terapia antirretroviral com os valores de contagem de linfócitos T CD4+, carga viral sérica e positividade para CO e LP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

4.1.1 Amostra

Participaram do estudo 58 pacientes HIV positivos, internados no Hospital Oswaldo Cruz – Secretaria de Estado de Saúde do Paraná, no período de março a agosto de 2013. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com a aprovação do termo apresentado ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná - Número do Parecer: 235.835 (Anexo II).

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do trabalho pacientes cuja avaliação bucal, por algum motivo, foi prejudicada ou impossibilitada e aqueles para os quais não foi possível o acesso ao prontuário.

4.1.3 Produtos e equipamentos utilizados

O material utilizado para a coleta foi: escovas do tipo *cytobrush*; meio líquido para preservação do material; lâminas com borda fosca; lamínulas; luvas de procedimentos; máscaras cirúrgicas, toucas, jalecos e, quando necessário, máscaras de proteção N95.

Os produtos químicos utilizados foram: Kit de coloração de Papanicolaou marca Newprov®; xilol; Entellan®; álcool absoluto, kit de citologia em meio líquido (Liqui-PREP™).

Os equipamentos utilizados foram microscópio óptico Nikon Eclipse E200 trinocular, com câmera de captura Dino-Lite acoplada ao microscópio e ligada ao computador; agitador de tubos Phoenix AP 56 e centrífuga Sigma 4K15 (aparelhos disponíveis nos Laboratórios de Citologia Clínica e de Hematologia Clínica da Universidade Federal do Paraná - UFPR).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Exame clínico

O atendimento foi realizado no próprio quarto onde o paciente estava internado. Os participantes foram orientados em relação aos objetivos da pesquisa e, após explicação, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo III).

O exame clínico foi dividido em anamnese e exame físico, ambos realizados por um cirurgião dentista especialista em Estomatologia.

4.2.2 Anamnese

A anamnese foi realizada no leito do próprio quarto onde o paciente estava internado. O cirurgião dentista fazia a avaliação no formato de entrevista quando o paciente estava consciente. As seguintes variáveis foram obtidas durante a anamnese: confirmação da identificação, queixa principal, história buco-dental, hábitos e vícios do paciente (Anexo IV).

4.2.3 Avaliação da mucosa oral

Os pacientes foram examinados por meio da inspeção visual e da palpação das seguintes regiões anatômicas: lábios, vestíbulo, gengivas, mucosa, jugal, língua, palato mole, palato duro, soalho bucal e região retromolar. Esse exame teve como objetivo a identificação de lesões e alterações bucais ou dentárias.

Todas as lesões ou alterações observadas durante o exame foram anotadas numa ficha clínica (Anexo IV). Em seguida, estes dados eram transcritos para o prontuário do paciente.

Os critérios utilizados no diagnóstico da CO e da LP estão descritos a seguir.

4.2.3.1 Critérios para avaliação de candidíase oral (CO)

Para a avaliação das formas clínicas de CO foram considerados para diagnóstico os critérios descritos pelo EC-CLEARINGHOUSE & WHO (1993): candidíase eritematosa - áreas avermelhadas localizadas no palato ou na língua, ocasionalmente na mucosa oral e sem nenhum agente traumático associado (Figura 1); candidíase pseudomembranosa - placas esbranquiçadas (pseudo-membranas) presentes na cavidade oral; quando destacadas, podem revelar porções eritematosas que podem apresentar sangramento (Figura 2).

Mais de um tipo de lesão por candidíase pode aparecer no mesmo paciente.



FIGURA 1 – CANDIDÍASE ERITEMATOSA EM DORSO DE LÍNGUA

FONTE: NEVILLE *et al.* (2009)

NOTA: Apresentação intensa da atrofia papilar central da superfície dorsal da língua.



FIGURA 2 – CANDIDÍASE PSEUDOMEMBRANOSA EM MUCOSA JUGAL

FONTE: GOLDMAN e SCHAFER (2012)

NOTA: Placas brancas destacáveis localizadas na mucosa oral.

4.2.3.2 Critérios para avaliação de leucoplasia pilosa oral

Para a avaliação das formas clínicas de LP, também foram considerados para diagnóstico os critérios de EC-CLEARINGHOUSE & WHO (1993): lesões com tom de cor branco acinzentado nas margens laterais da língua, não destacáveis e com corrugações verticais (estrias). Podem se estender para o dorso ou o ventre da língua, com característica plana, corrugada ou pilosa (Figura 3).



FIGURA 3 – LEUCOPLASIA PILOSA NA LATERAL DA LÍNGUA

FONTE: NEVILLE *et al.* (2009)

NOTA: Estrias verticais de ceratinização ao longo da margem lateral da língua.

4.2.4 Coleta do material

Imediatamente após a avaliação clínica, o material citológico foi coletado da mucosa oral, abrangendo ambas as bordas laterais da língua. O material coletado foi adquirido por raspagens, girando-se firmemente a escova por toda borda lateral da língua e, posteriormente depositado em frasco contendo 10 mL de meio líquido *Specimen Preservative* (Liqui-PREP™), o qual foi previamente identificado.

4.2.5 Processamento do material

O processamento da amostra para fixação em lâmina de microscopia foi realizado de acordo com os padrões recomendados pelo fabricante, como descrito na bula do produto (Anexo V). A lâmina foi fixada em álcool absoluto por 20 minutos e, em seguida, corada.

4.2.6 Coloração e montagem das lâminas

A coloração utilizada foi a de Papanicolaou, com modificações recomendadas pelo fabricante do kit de coloração (NEWPROV®). Todas as lâminas foram coradas no Laboratório de Citologia Clínica da UFPR, seguindo-se a bula do produto (Anexo VI).

As lâminas coradas foram mantidas imersas em xilol até o momento do preparo. Após adição de 2 gotas de verniz vitral, a cobertura do material foi realizada com lamínula 24x60 mm e submetidas a secagem por 24 horas na capela de exaustão.

4.2.7 Avaliação citológica

As leituras foram realizadas em microscópio óptico Nikon Eclipse E200 trinocular, com câmera de captura Dino-Lite acoplada, ligado ao computador para captura de fotografias. As lâminas foram analisadas por dois especialistas em citologia clínica.

Todas as lâminas foram identificadas com códigos compostos de letras e números em duplo cego para evitar qualquer tendência na leitura do material. O escrutínio foi realizado utilizando-se objetiva com aumento de 10 vezes e, quando alguma estrutura semelhante às lesões pesquisadas era identificada, o observador trocava a objetiva para uma com aumento de 40 vezes para melhor observação e confirmação.

4.2.7.1 Critérios para avaliação de candidíase oral

Foram consideradas positivas para CO: a) lâminas lidas com material biológico que apresentaram estruturas semelhantes a leveduras, com ou sem brotamento, de formato redondo a oval, normalmente refringente, medindo

aproximadamente de 3 a 5 μm ; lâminas com estruturas em “formato de bambu”, geralmente apresentando septação, podendo ser refringentes, de diâmetro aproximado de 2 μm , contendo ou não ramificações e ainda ser observadas em grupamentos do tipo lancetamento (Figuras 4 e 5) (BRASIL. Ministério da Saúde. ANVISA, 2004; KOSS; MELAMED, 2006; CIBAS; DUCATMAN, 2009; NEVILLE *et al.*, 2009).

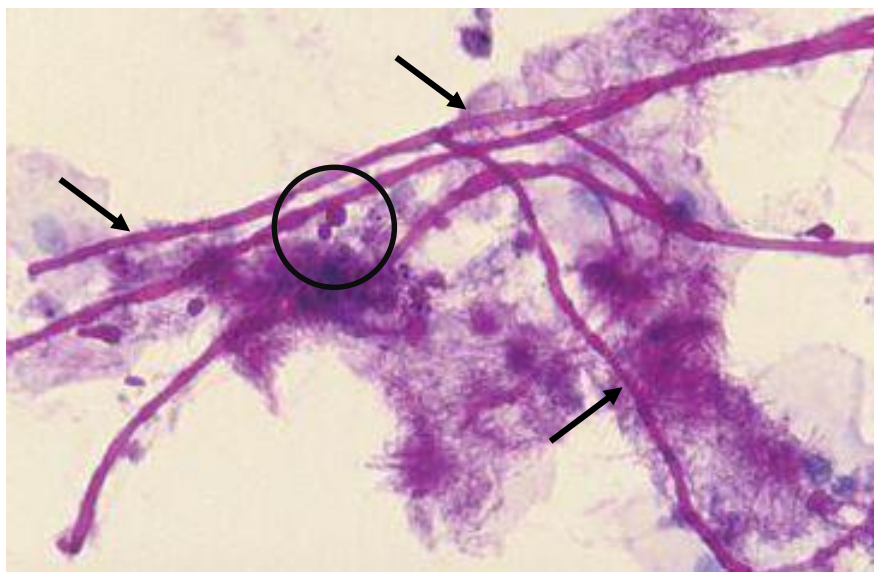


FIGURA 4 – FOTOMICROGRAFIA DE ELEMENTOS FÚNGICOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Candida albicans*
FONTE: NEVILLE *et al.* (2009)

NOTA: Candidíase oral. Hifas fúngicas com aspecto tubular (setas) e leveduras ovoides (círculo) de *Candida albicans*. Coloração de PAS.

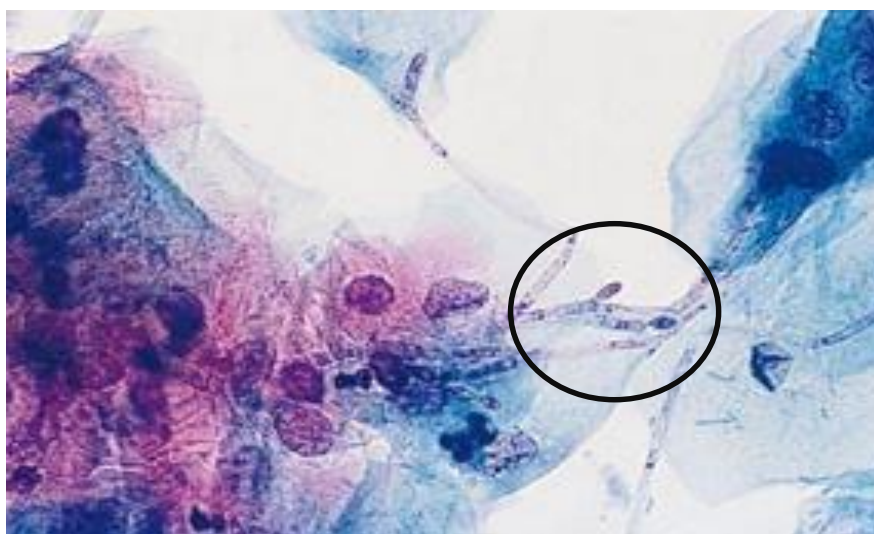


FIGURA 5 – FOTOMICROGRAFIA DE ELEMENTOS FÚNGICOS MORFOLOGICAMENTE CONSISTENTES COM *Candida albicans*
FONTE: CIBAS; DUCATMAN (2009)

NOTA: Candidíase vaginal. Presença de pseudo-hifas e leveduras, com estruturas brotando das pseudo-hifas.

4.2.7.2 Critérios para avaliação de leucoplasia pilosa

Para a identificação das alterações citopáticas induzidas pelo EBV, foram observadas as alterações nucleares descritas na literatura. São 3 as características mais marcantes: inclusão de Cowdry tipo A – inclusão eosinofílica central no núcleo, cercado por uma área clara (Figura 6); núcleo em colar – há uma marginação da cromatina na periferia do núcleo, em aglomerados (Figura 7); núcleo em vidro fosco – caracterizado também por marginação da cromatina associado ao aspecto de vidro fosco do núcleo (Figura 8) (FRAGA-FERNANDEZ; VICANDI-PLAZA, 1992; MIGLIORATI *et al.*, 1993; DIAS *et al.*, 2000).

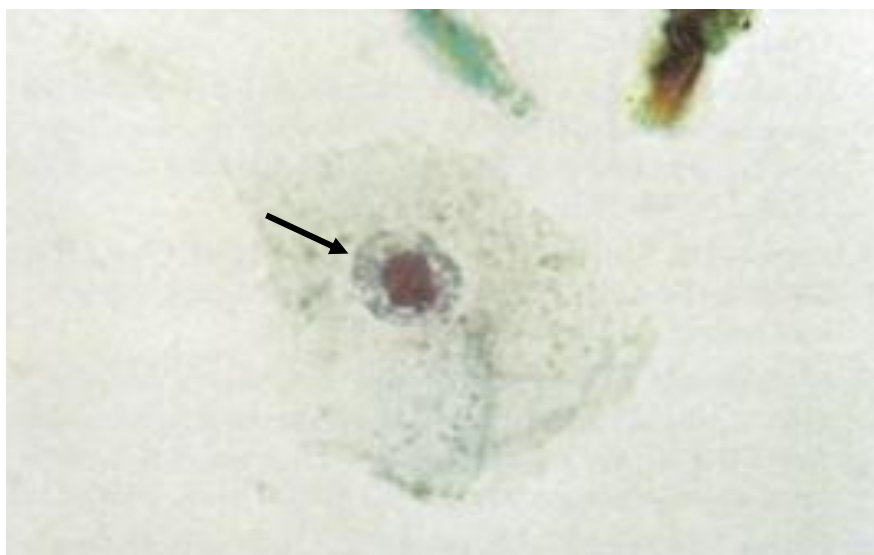


FIGURA 6 – FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULA COM INCLUSÃO INTRANUCLEAR COWDRY TIPO A

FONTE: DIAS *et al.* (2000)

NOTA: Coloração Papanicolaou, x1.000.

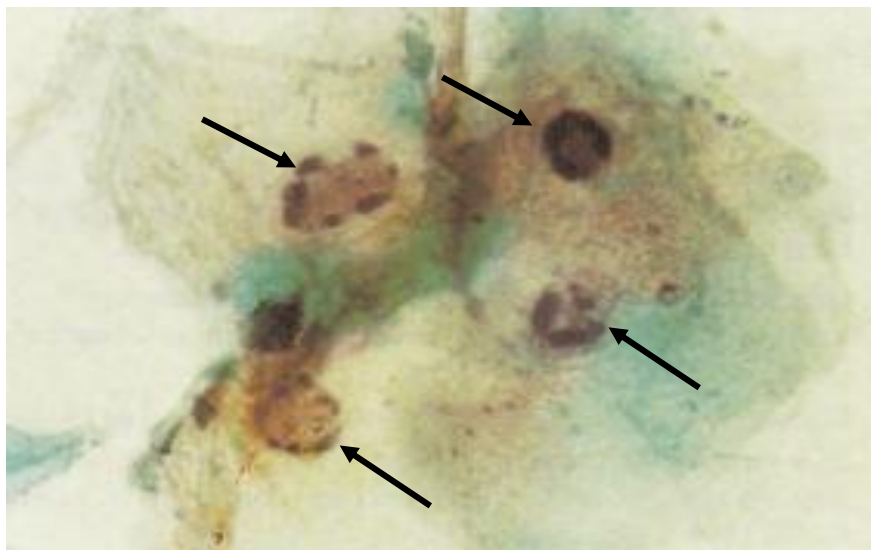


FIGURA 7 – FOTOMICROGRAFIA DE NÚCLEO EM COLAR

FONTE: DIAS *et al.* (2000)

NOTA: Células escamosas com aglomerados de cromatina na margem da membrana nuclear. Coloração Papanicolaou, x1.000.

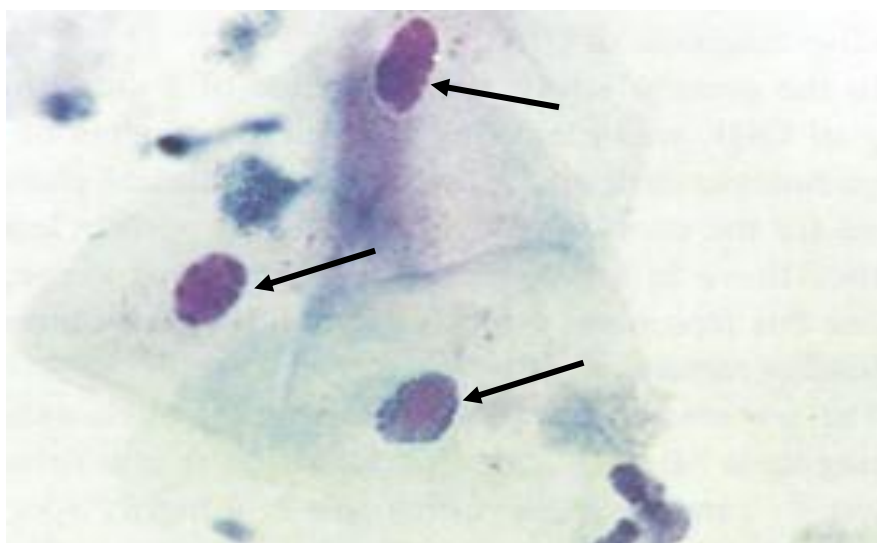


FIGURA 8 – FOTOMICROGRAFIA DE CÉLULAS COM NÚCLEO EM VIDRO FOSCO

FONTE: DIAS *et al.* (2000)

NOTA: Células escamosas com núcleo de aspecto de vidro fosco e marginalização da cromatina. Coloração de Papanicolaou, x1.000.

4.2.8 Determinação da eficácia dos métodos

Foram coletados dados do prontuário dos pacientes, relativos aos resultados dos exames de contagem de linfócitos T CD4⁺ e de carga viral sérica. No final dos

testes, os dados foram comparados, fazendo-se a relação entre os casos com exames clínicos e citológicos positivos, tanto de leucoplasia pilosa quanto de candidíase oral, para os diferentes tipos de exame. Posteriormente, foi estabelecido um padrão entre a positividade e a carga viral, juntamente com a contagem dos linfócitos T CD4+ nos indivíduos da pesquisa

Para todos os cálculos envolvendo dados da imunidade do paciente, foram descartados aqueles em que os exames de contagem de linfócitos T CD4+, % de linfócitos T CD4+ e carga viral sérica não foram realizados em um intervalo de 30 dias anteriormente ou posteriormente à data da avaliação clínica e coleta de material citológico oral.

Para simplificação dos cálculos e para evitar alterações no número de discordâncias entre o diagnóstico clínico e o resultado da citologia, os casos em que o exame clínico apresentou dúvidas e – apenas estes – foram considerados os diagnósticos de acordo com o esclarecido pela citologia.

4.2.9 Testes estatísticos

Para a realização dos testes estatísticos, no presente trabalho, foram utilizados os programas de planilhas Microsoft Excel, parte do Microsoft Office Professional Plus 2010 e o programa de cálculo de testes estatísticos STATISTICA 8.0 da empresa StatSoft. Inc.

Para a distribuição e comparação dos diferentes grupos de TARV entre as variáveis observadas, foram realizados testes de normalidade. Para a comparação de dois grupos independentes, para as variáveis: contagem de linfócitos T CD4+, % de linfócitos T CD4+ e dosagem de carga viral sérica, foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 PERFIL DOS PACIENTES

No presente estudo, foi analisada a incidência de lesões orais em 58 pacientes infectados pelo HIV, sendo 41 do sexo masculino (70,7%) e 17 do sexo feminino (29,3%), com idades entre 23 e 72 anos (Figura 9). Os valores médios obtidos foram de $41,5 \pm 10,6$ anos para homens e de $41,3 \pm 8,0$ anos para mulheres.

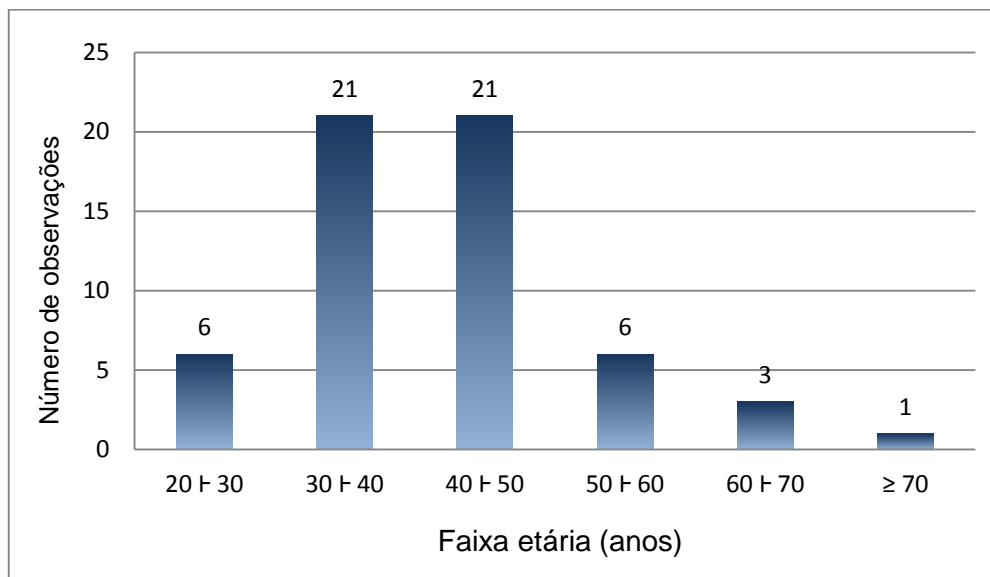


FIGURA 9 - DISTRIBUIÇÃO POR FAIXA ETÁRIA, EM ANOS, DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

NOTA: n=58.

Entre os pacientes estudados, aproximadamente 83% não tinham companheiros fixos, sendo que 12% eram divorciados e 7%, viúvos (Tabela 1). Todos os viúvos relataram terem perdido seus parceiros devido a complicações decorrentes de infecção pelo HIV. Em relação à frequência da faixa salarial dos pacientes estudados, 63% informaram ter uma renda de até 2 salários mínimos, porém, 25% deles não informaram a renda (Figura 10).

Em relação à hipótese de contaminação pelo HIV, 88% dos pacientes relataram contágio em relações sexuais; somente 5%, pelo uso de drogas injetáveis; sendo que 7% deles relataram não conhecer a forma de contaminação.

TABELA 1 - ESTADO CIVIL DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Estado civil	N	n Cumulativo	%	% Cumulativa
Solteiros*	37	37	63,8	63,8
Casados	7	44	12,1	75,9
Divorciados	7	51	12,1	87,9
Viúvos	4	55	6,9	94,8
Outros**	3	58	5,1	100

NOTA: *Sem companheiros fixo. **Amigados ou morando junto há longo tempo (como descrito no prontuário). n=58.

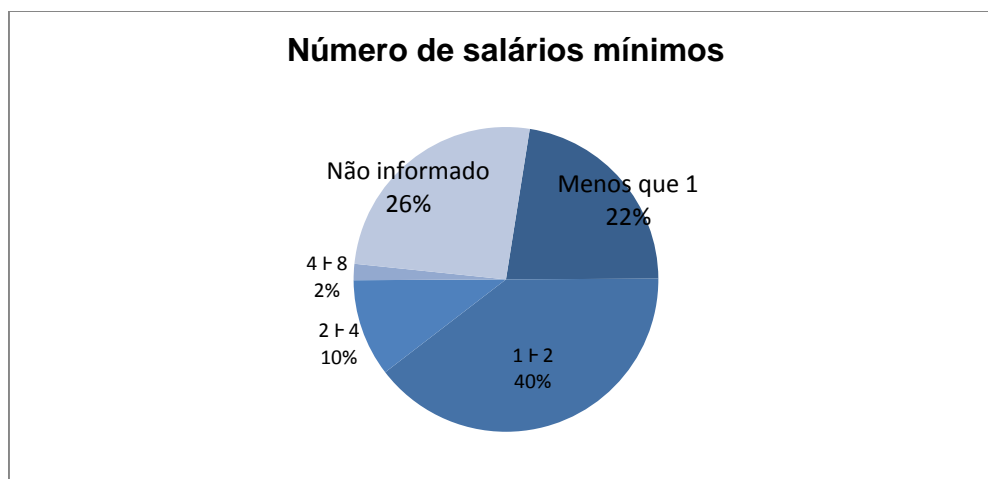


FIGURA 10 - DISTRIBUIÇÃO DE RENDA DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

NOTA: n=58.

Entre os pacientes, 71% afirmaram ser tabagistas; 62%, etilistas frequentes; e, em relação ao uso de drogas ilícitas, 33% relataram serem usuários e 62% afirmaram não utilizá-las (Tabela 2).

Dentre os principais motivos de internação, figuram as pneumopatias, tais como tuberculose e pneumonia, que normalmente são relacionadas aos indivíduos portadores de HIV e, em seguida os primeiros sinais inespecíficos, no

início da imunossupressão o organismo do indivíduo – febre, diarreia, perda de peso, fraqueza e sudorese noturna. Apenas 3 das internações, não foram relacionadas a nenhum tipo de infecção. Existem outros motivos de internação que não são relacionados diretamente à infecção como, por exemplo, dores no abdome, mas, mesmo nesses casos, não se pode excluir uma infecção como sendo a causa (Tabela 3).

TABELA 2 – DROGAS ILÍCITAS UTILIZADAS PELOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Drogas	n	%
Não utilizavam	36	62,1
Maconha	7	12,1
Cocaína	8	13,8
Crack	5	8,6
Injetáveis	3	5,2
Outras	4	6,9
Não informaram	3	5,2

NOTA: Alguns pacientes utilizavam mais de um tipo de drogas ilícitas. n=58.

TABELA 3 – MOTIVO DE INTERNAÇÃO DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Motivo de internação	n	%
Pneumopatias esclarecidas	15	25,9
Febre, diarreia, perda de peso e fraqueza	9	15,5
Meningite	5	8,6
Herpes zoster	4	6,9
Pneumopatias não esclarecidas	4	6,9
Não relacionadas a infecções	3	5,2
Candidíase esofágica	2	3,4
Neurotoxoplasmose	2	3,4
Outros: infecções oportunistas*	2	3,4
Outros**	12	20,7
Total	58	100,0

NOTA: *Um caso de retinite e um caso de mononucleose infecciosa.

**Internação por sintomas não necessariamente relacionados ao HIV. n=58.

Os pacientes foram questionados sobre o uso da terapia antirretroviral antes do período que se seguiu ao internamento. Apenas 19 (32,7%) afirmaram tomar os medicamentos e, ainda assim, desses apenas 9 (15,5%) tomavam de forma correta seguindo as indicações médicas. Dois pacientes afirmaram não saber se tomavam os medicamentos e, a maioria, 37 (63,8%), afirmou ter abandonado o tratamento ou nunca iniciado.

Quanto ao tempo de diagnóstico, foram consultados os prontuários dos pacientes. No gráfico a seguir (Figura 11), tem-se a distribuição, em meses, do dia do diagnóstico para HIV até o dia da avaliação no Hospital Oswaldo Cruz pelo cirurgião dentista responsável.

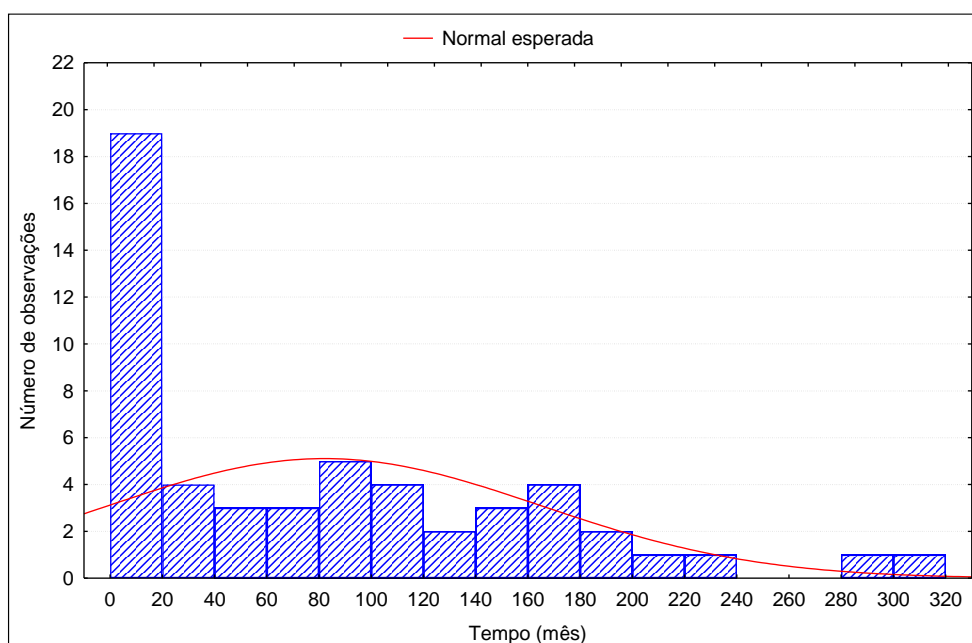


FIGURA 11 - DISTRIBUIÇÃO, EM MESES, DO TEMPO DECORRIDO DO DIA DO DIAGNÓSTICO PARA PORTABILIDADE DO HIV ATÉ O DIA DA AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013
NOTA: n=58.

5.2 SISTEMA IMUNE E CARGA VIRAL

Para a avaliação do sistema imune dos pacientes foram levantados dados de exames realizados em ± 1 mês em relação à data do atendimento. Os dados

obtidos foram: contagem de linfócitos T CD4+, % de linfócitos T CD4 e carga viral sérica.

A distribuição da contagem dos linfócitos do sistema imune e carga viral sérica foram correlacionadas com a utilização do TARV prévio ao internamento. Dois pacientes que não souberam informar se tomavam ou não o medicamento; e 11, com resultados de exames que ultrapassavam o intervalo de 1 mês anterior ou posteriormente à data de avaliação, foram eliminados dessa comparação. Os grupos de TARV foram divididos em: T1, pacientes que nunca tomaram ou abandonaram o TARV; T2, pacientes em tratamento regular de acordo com indicações médicas; T3, pacientes que estão em TARV, porém não o utilizam regularmente, como indicado pelo clínico.

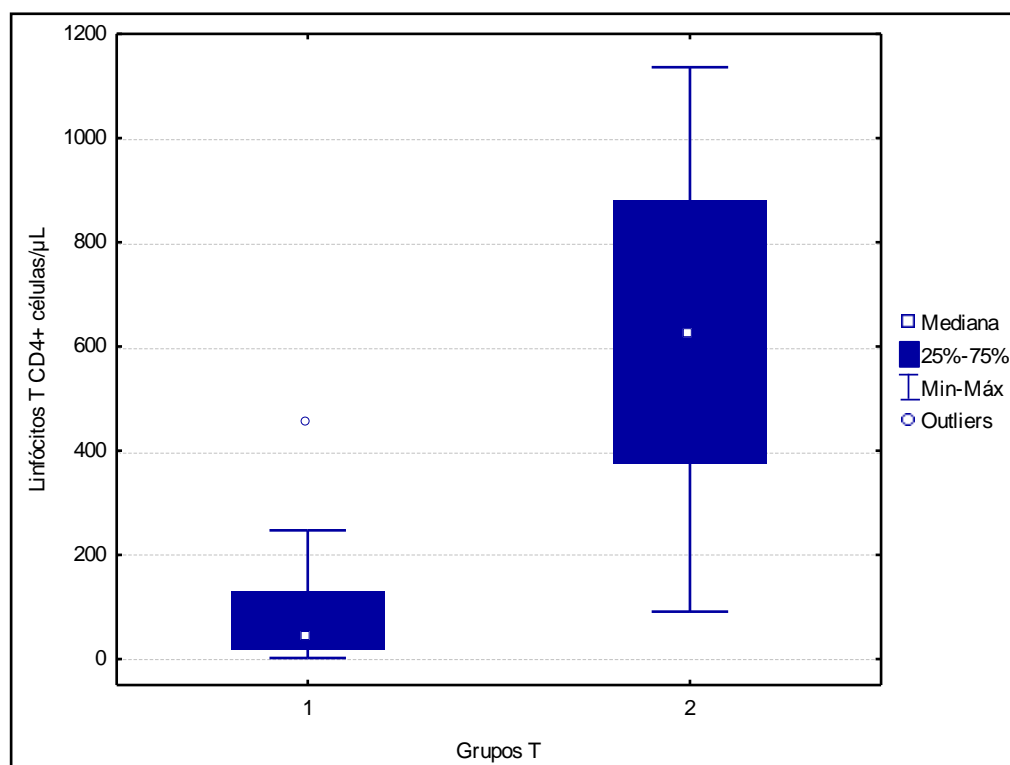


FIGURA 12 CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN-WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-3,49$; $p<0,05$)
 NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, n=29. T2 - Utilizavam o TARV regularmente antes da internação, n=7. n ajustado descartando os extremos e pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

Os primeiros testes foram realizados segundo a contagem de linfócitos T CD4+, utilizando-se 2 grupos bem distintos na comparação, T1 e T2. (Figura 12). Para o segundo gráfico, a comparação foi feita entre T1 e T3 (Figura 13) (para esses cálculos estatísticos, foi removido um *outlier* extremo do grupo 1 – 1075 células/ μ L – e outro do grupo 3 – 623 células/ μ L – ficando $nT_1=29$, $nT_2=7$, $nT_3=7$).

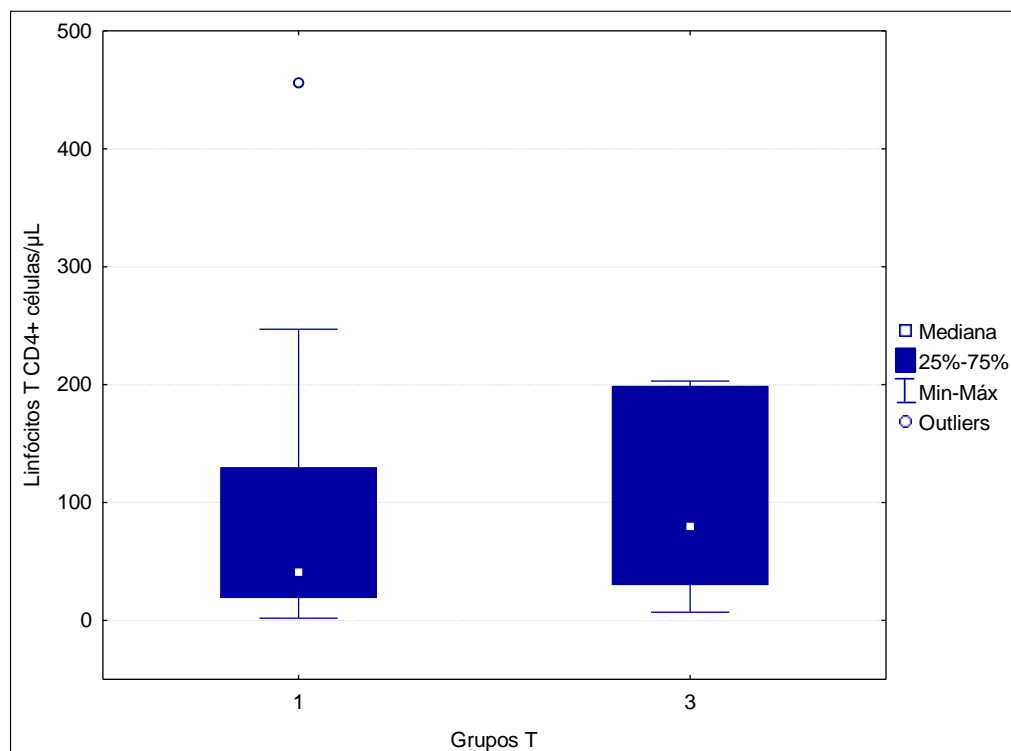


FIGURA 13 - CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN-WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-1,06$; $p>0,05$)

NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, $n=29$. T3 - Utilizavam o TARV irregularmente até o momento da internação, $n=7$. n ajustado descartando os extremos e pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

Nas comparações foram utilizadas análises não paramétricas após o teste de Lilliefors apontar uma distribuição diferente da normal ($p<0,05$). Aplicado o teste U de Mann-Whitney, para distinção dos grupos, sendo a hipótese nula ($H=0$) verdadeira caso os grupos sejam semelhantes e H_1 , apontando a diferença dos grupos. Os resultados para a primeira comparação (Figura 12), utilizando-se o $\alpha=0,05$; foi de $Z=-3,49$; e $p<0,05$; portanto diz-se que a contagem de linfócitos T CD4+ dos dois grupos é estatisticamente diferente. Para a segunda comparação

(Figura 13), com o mesmo valor de α , tem-se $Z=-1,06$; $p>0,05$; ou seja, estatisticamente iguais. Os resultados obtidos para média e desvio padrão da contagem dos linfócitos em cada grupo foram: T1 ($87,9 \pm 98,7$ células/ μL), T2 ($624,6 \pm 359,3$ células/ μL) e T3 ($111,4 \pm 85,5$ células/ μL).

Com relação à comparação dos grupos levando-se em conta a % de linfócitos T CD4+, foi observado que há diferença entre os grupos T1 e T2 (Figura 14), como observado na contagem de células/ μL e que, seguindo a lógica, não houve diferença entre os grupos T1 e T3 (Figura 15) (Não foi considerada a necessidade de exclusão dos *outliers* nessa comparação – ficando $n_{T1}=30$, $n_{T2}=7$, $n_{T3}=8$), lembrando que quanto maior essa porcentagem, melhor o prognóstico do paciente. Os resultados obtidos para média e desvio padrão da porcentagem dos linfócitos em cada grupo foram: T1 ($9,9 \pm 7,8$ %), T2 ($28,1 \pm 13,0$ %) e T3 ($13,3 \pm 10,3$ %). O teste de Lilliefors foi de $p<0,05$ para os diferentes grupos, o teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) para T1 e T2 foi de $Z=-3,18$, $p<0,05$, e para T1 e T3, foi de $Z=0,13$, $p>0,05$.

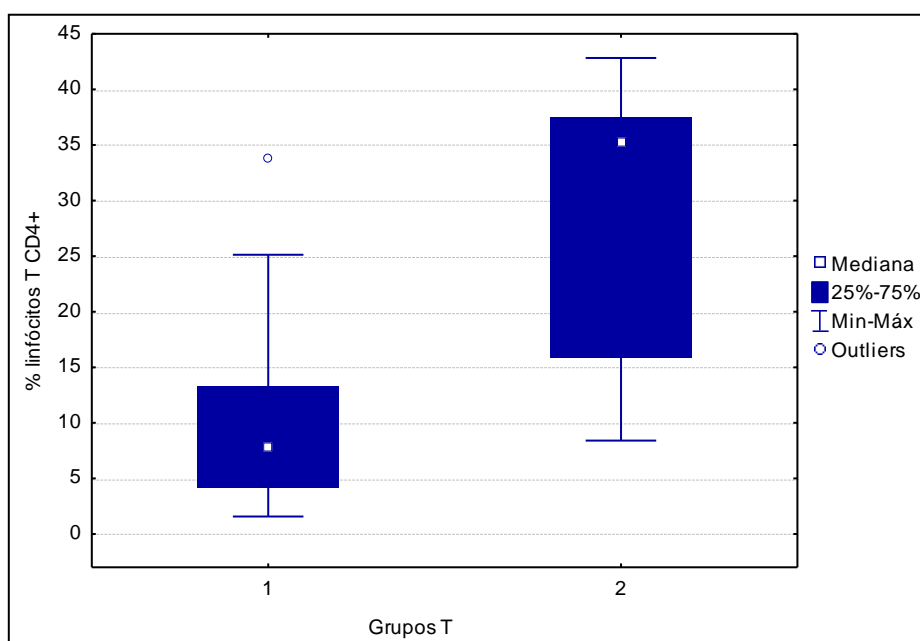


FIGURA 14 - PORCENTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN-WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=-3,18$; $p<0,05$)

NOTA: T1 = Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, $n=30$. T2 = Utilizavam o TARV regularmente antes da internação, $n=7$. n ajustado descartando os pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

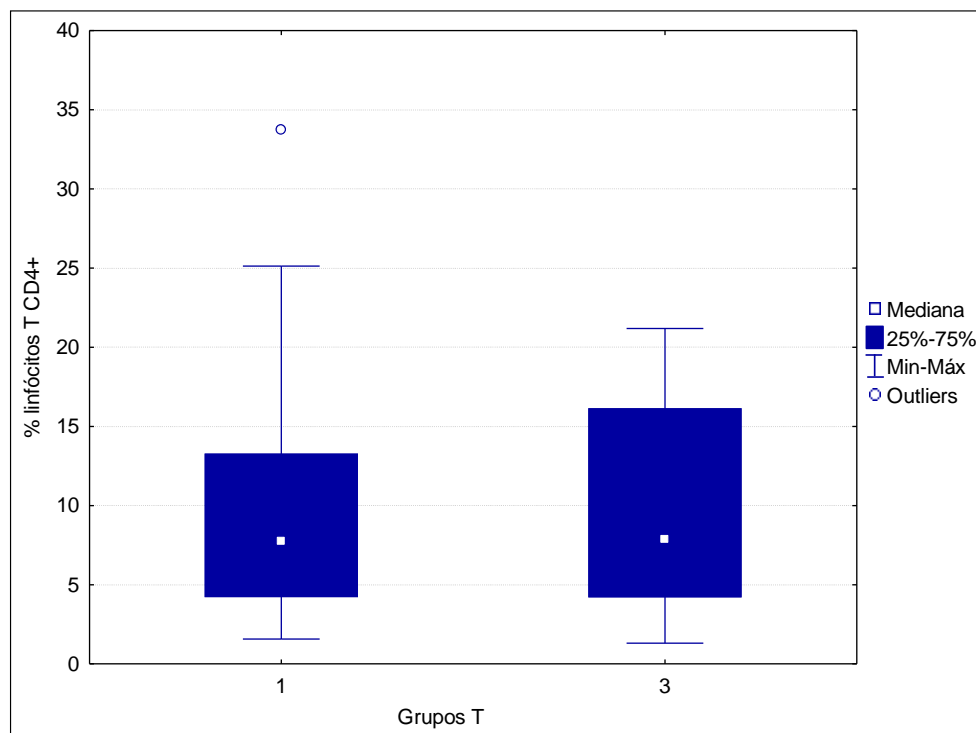


FIGURA 15 - PORCENTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO ANTES DA INTERNAÇÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (*Mann-Whitney U Test*, $\alpha=0,05$; $Z = 0,13$; $p>0,05$)

NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, $n=30$. T3 - Utilizavam o TARV irregularmente até o momento da internação, $n=8$. n ajustado descartando os pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

Para a análise da carga viral, foram utilizados os dados da comparação anterior. Foram observados os mesmos padrões estatísticos entre os grupos T. Observou-se diferença significativa entre T1 e T2 (Figura 16) e não houve diferença entre os grupos T1 e T3 (Figura 17) (Não foi considerada a necessidade de exclusão dos *outliers* nessa comparação – ficando $n_{T1}=30$, $n_{T2}=7$, $n_{T3}=8$). Aqui, quanto menor o número de cópias virais, melhor protegido o organismo se encontra, além de diminuir possíveis transmissões. Os resultados obtidos para média e desvio padrão da dosagem da carga viral em cada grupo foram: T1 ($94269,5 \pm 145102,5$ cópias/mL), T2 ($8570,9 \pm 22534,8$ cópias/mL) e T3 ($22823,9 \pm 23085,6$ cópias/mL). O teste de normalidade de Lilliefors foi de $p<0,05$; o teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) para T1 e T2, de $Z=3,17$, $p<0,05$; e para T1 e T3 foi de $Z=1,34$, $p>0,05$.

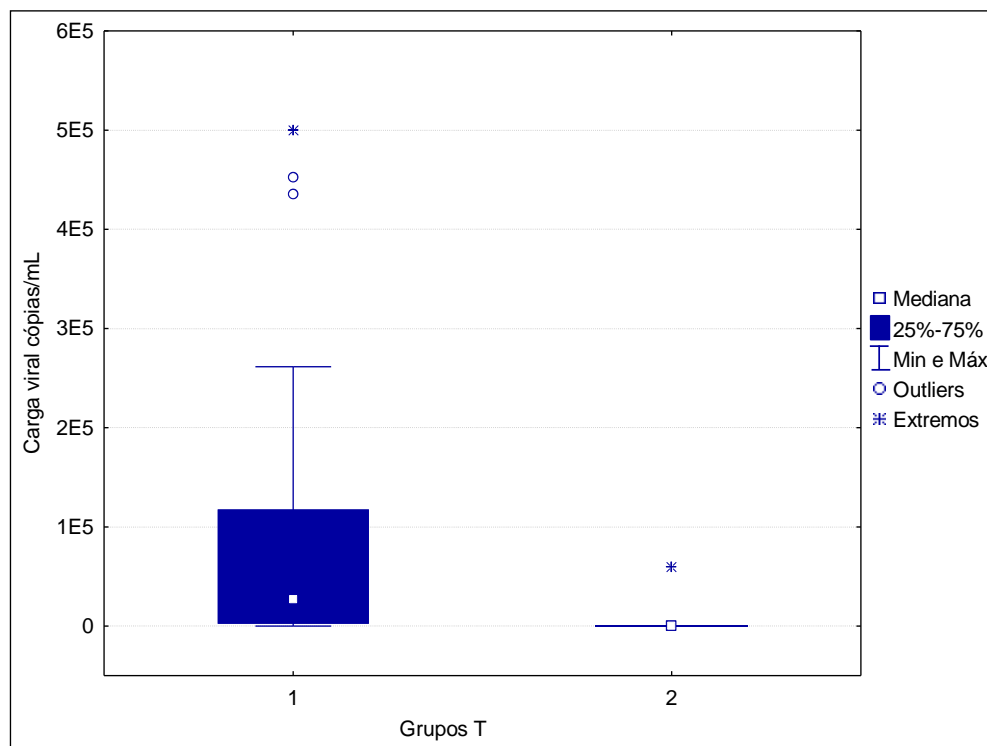


FIGURA 16 - CARGA VIRAL SÉRICA EM PACIENTES QUE ESTAVAM EM TARV PRÉVIO OU NÃO ANTES DA INTERNAÇÃO, SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ - SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ. CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (*Mann-Whitney U Test*, $\alpha=0,05$; $Z=3,17$; $p<0,05$)

NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, $n=30$. T2 - Utilizavam o TARV regularmente antes da internação, $n=7$. n ajustado descartando os pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

O teste de normalidade de Lilliefors foi de $p<0,05$; o teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) para T1 e T2, de $Z=3,17$, $p<0,05$; e para T1 e T3 foi de $Z=1,34$, $p>0,05$.

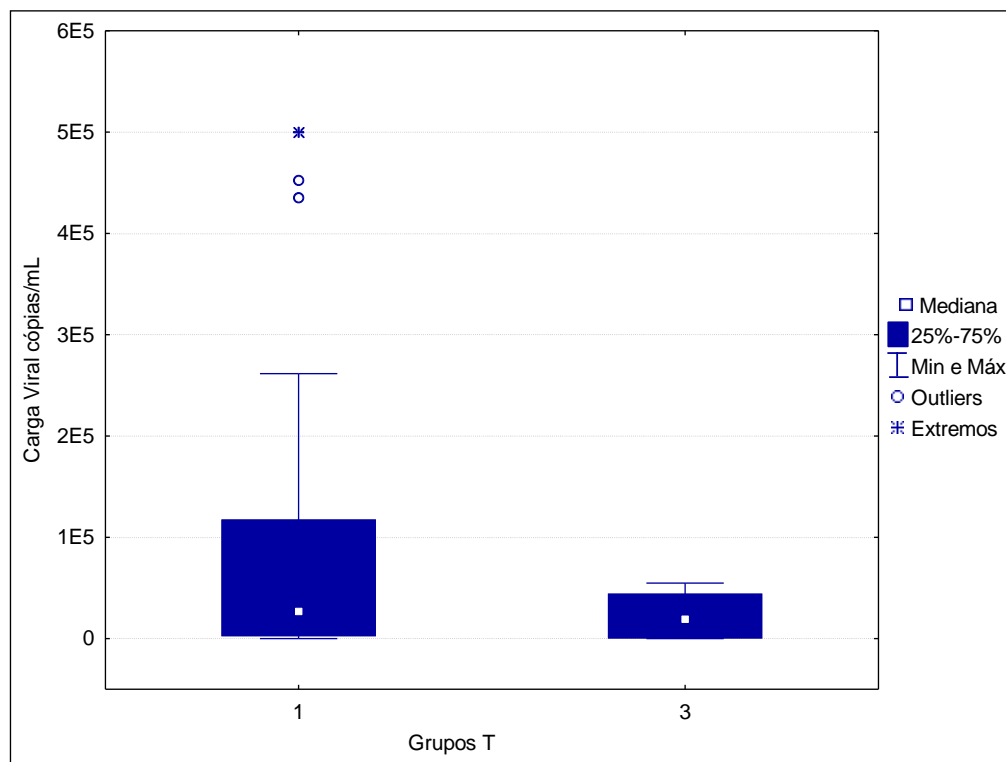


FIGURA 17 - CARGA VIRAL SÉRICA EM PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ. CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013 (MANN-WHITNEY U TEST, $\alpha=0,05$; $Z=1,34$; $p>0,05$)

NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, $n=30$. T3 - Utilizavam o TARV irregularmente até o momento da internação, $n=8$. n ajustado descartando os pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

Para uma comparação de frequência da distribuição dos pacientes, por grupos de TARV, segundo a classificação de estadiamento para AIDS do CDC (2008), levando em conta apenas a contagem de linfócitos T CD4⁺/μL, observa-se a Tabela 4. Para o grupo T1 temos 90,0% dos indivíduos com contagem de linfócitos T CD4⁺ abaixo de 200 células/μL. Para o grupo T2, a maioria dos pacientes (57,1) encontram-se na faixa de linfócitos acima de 500 células/μL e no grupo T3, a maioria (75,0%) está na primeira faixa abaixo de 200, como encontrado no grupo T1.

TABELA 4 - FREQUÊNCIA DA CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+ NOS GRUPOS EM TARV DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Linfócitos T CD4+/ μL^3	Contagem	Contagem cumulativa	Porcentagem	Porcentagem cumulativa
Grupo T1				
< 200	27	27	90,0	90,0
200 f 500	2	29	6,7	96,7
≥ 500	1	30	3,3	100
Grupo T2				
< 200	1	1	14,3	14,3
200 f 500	2	3	28,6	42,9
≥ 500	4	7	57,1	100
Grupo T3				
< 200	6	6	75,0	75,0
200 f 500	1	7	12,5	87,5
≥ 500	1	8	12,5	100

NOTA: T1 - Nunca utilizaram TARV ou abandonaram o tratamento, antes da internação, n=30. T2 - Utilizavam o TARV regularmente antes da internação, n=7. T3 - Utilizavam o TARV irregularmente até o momento da internação, n=8. 'n' ajustado descartando os pacientes cujas datas dos exames ultrapassaram o intervalo de ± 1 mês da data de avaliação.

5.3 ALTERAÇÕES BUCAIS

A semiologia dos pacientes, realizada por cirurgiões dentistas, mostrou várias alterações bucais. As principais características detectadas foram cáries (41,4%), raízes residuais (31%), periodontites (24,1%) e ressecamentos (19%). As demais apresentaram uma frequência abaixo de 14%. Apenas um paciente não apresentou nenhuma alteração bucal relatada (Tabela 5).

TABELA 5 – ALTERAÇÕES BUCAIS EM PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Alterações bucais		
Tipo	n	%
Cáries	24	41,4
Raízes residuais	18	31,0
Periodontites	14	24,1
Ressecamentos	11	19,0
Gengivite	8	13,8
Varizes	8	13,8
Língua despilada	8	13,8
Fissura labial	7	12,1
Pigmentação melânica	6	10,3
Cálculo	5	8,6
Úlceras	5	8,6
Indutos	5	8,6
Hiperqueratose reacional	5	8,6
Próteses	3	5,2
Leucoedema	3	5,2
Melanose do fumante	3	5,2
Exposição do colo do dente	2	3,4
Fratura	2	3,4
Estomatite nicotínica	2	3,4
Outras*	8	13,6

NOTA: Uma ou mais alterações bucais foram encontradas nos pacientes.

*Argirose, líquen plano, mesiodente, uso de aparelho ortodôntico, hiperplasia fibrosa, queilite angular, linha alba e eritema gengival linear. n=58. Um paciente não apresentou nenhuma alteração bucal.

5.4 LESÕES ORAIS

Os resultados descritos neste item referem-se às seguintes lesões: candidíase oral, leucoplasia pilosa oral e outras lesões relacionadas à infecção pelo HIV.

As lesões foram identificadas pela clínica segundo os critérios estabelecidos na metodologia do trabalho. As características observadas foram condizentes com as citadas pela literatura utilizada e não houve maiores problemas de identificação, com exceção dos casos 32, 34 e 52, nos quais com a avaliação clínica não se conseguiu distinguir se a lesão por candida

acompanhava ou não a leucoplasia pilosa oral, por motivo de sobreposição das lesões. Houve dúvida também no caso 27, se a lesão apresentada era provocada pelo vírus Herpes simples. Alguns pacientes apresentaram mais de um tipo de lesão, como observado no caso 20 (Figura 18). O resultado dos casos duvidosos confirmados pela citologia está destacado em amarelo na Tabela 6, que demonstra todos os diagnósticos clínicos e resultados citológicos.

Na Figura 19 pode ser observada as fotografias da mucosa oral de 3 pacientes onde foram identificadas as lesões por CO. Os três casos apresentam lesões pseudomembranosas, com placas esbranquiçadas, removíveis por raspagem, encontradas em diferentes locais da boca (Figura 19A - língua; Figura 19B - mucosa lateral da boca; Figura 19C - palato). Na Figura 20 é evidenciada a lesão por CO do tipo eritematosa, com áreas avermelhadas localizadas no palato.



FIGURA 18 – PACIENTE ATENDIDO NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ, CURITIBA-PR, APRESENTANDO CANDIDÍASE ORAL E LEUCOPLASIA PILOSA

FONTE: O AUTOR (2013). CRÊDITOS: Antonio Adilson Soares de Lima.

NOTA: Língua exibindo estrias na borda lateral da língua, compatível com leucoplasia pilosa e as placas do dorso e ventre da língua, sugestíveis de candidíase. Lesões confirmadas pela citologia.

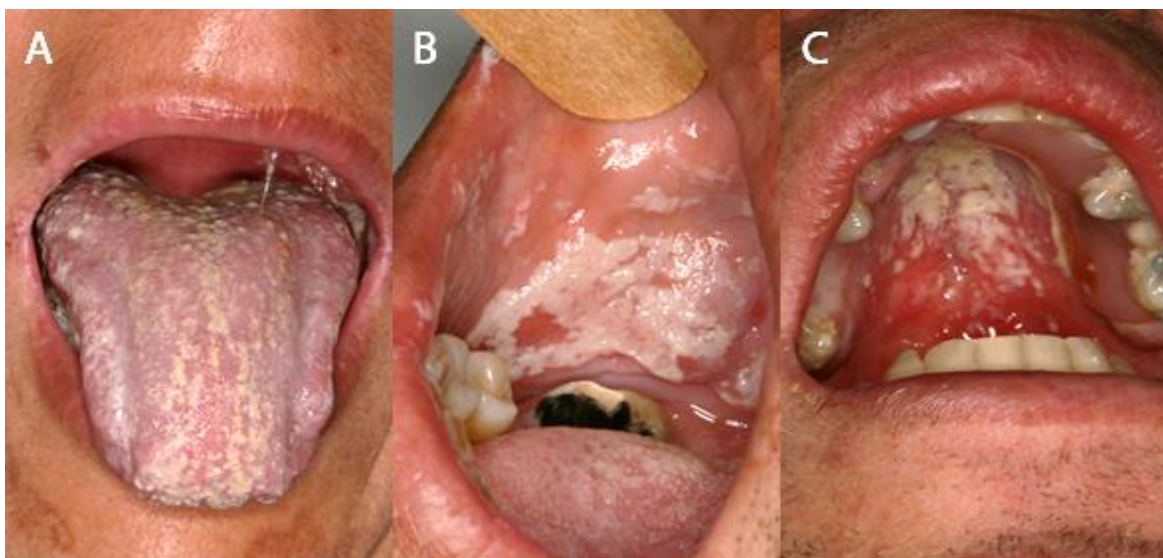


FIGURA 19 - CANDIDÍASE ORAL (CO) TIPO PSEUDOMEMBRANOSA DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

FONTE: O AUTOR (2013) CRÉDITOS: Antonio Adilson Soares de Lima.

NOTA: A – placas brancas amareladas presentes no ventre da língua; B – placas esbranquiçadas na mucosa jugal direita; C – placas esbranquiçadas localizadas no palato.



FIGURA 20 - CANDIDÍASE ORAL (CO) TIPO ERITEMATOSA DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR

FONTE: O AUTOR (2013) CRÉDITOS: Antonio Adilson Soares de Lima.

NOTA: áreas avermelhadas localizadas no palato

Na Figura 21, podem ser observadas, em fotografias de lesões orais, as corrugações e estrias formadas pela LP. As lesões ilustradas em borda lateral da língua eram não destacáveis; características presentes em todos os pacientes positivos para LP, segundo a avaliação física.



FIGURA 21 - LEUCOPLASIA PILOSA (LP) DE PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SESA, CURITIBA-PR, MARÇO À JULHO DE 2013

FONTE: O AUTOR (2013) CRÉDITOS: Antonio Adilson Soares de Lima.

NOTA: A, B - presença de estrias brancas não destacáveis em borda lateral da língua.

Além da CO e da LP, foram diagnosticadas as seguintes lesões: sarcoma de Kaposi (n=1), localizada no palato; lesão granulomatosa (n=1), confirmada como paracoccidioidomicose (*Paracoccidioides brasiliensis*), tanto pela citologia quanto pela histologia (método de Grocott³); Herpes simples (n=2) (Tabelas 6 e 7). No caso de sarcoma de Kaposi, o diagnóstico foi realizado pela clínica e posteriormente confirmado por biópsia. Não foi realizada a punção para o exame citológico.

³ Trata-se de preparo de peças histológicas por impregnação de prata nos cortes de parafina, precedida por ácido crômico (QUEIROZ, 2011).

TABELA 6 - LESÕES DETECTADAS PELO EXAME CLÍNICO E CITOLÓGICO EM PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Paciente	Exame físico	Citologia	Paciente	Exame físico	Citologia
1	Coe	negativo	30	negativo	CO
2	COp, LP	negativo	31	COp	CO
3	Negativo	CO	32	COp, LP?	CO
4	Negativo	negativo	33	COp	Negativo
5	Negativo	negativo	34	COp, LP? SK*	CO
6	Negativo	negativo	35	negativo	negativo
7	Negativo	negativo	36	COp	LP
8	Negativo	negativo	37	negativo	negativo
9	Negativo	negativo	38	LP	LP
10	COp	CO	39	COe,HS	Hs
11	Negativo	negativo	40	COe	CO
12	LP	CO, LP	41	negativo	negativo
13	Negativo	negativo	42	negativo	negativo
14	Negativo	negativo	43	negativo	CO, Hs
15	Negativo	CO	44	negativo	negativo
16	Coe	CO	45	negativo	negativo
17	Negativo	CO	46	CO, LP	CO, LP
18	COp	negativo	47	LP	LP
19	Negativo	negativo	48	CO	CO
20	COp, LP	CO, LP	49	negativo	LP
21	COp	CO, LP	50	negativo	negativo
22	COp	LP	51	COe	CO
23	COp, LG	CO, PCM	52	COp, LP?	CO
24	COp	CO	53	COp	CO, LP
25	Negativo	CO	54	negativo	negativo
26	COp	CO	55	COp	negativo
27	COp, HS?	CO, LP	56	CO	CO, LP
28	Negativo	negativo	57	negativo	CO
29	Negativo	CO, LP	58	COe	negativo

NOTA: COe = Candidíase Oral Eritematosa; COp = Candidíases Oral Pseudomembranosa; CO = Candidíase oral na citologia; LP = Leucoplasia Pilosa; HS = Lesão vesicular sugestiva de Herpes simplex; LG = Lesão granulomatosa; PCM = presença de células leveduriformes consistentes com *Paracoccidioides brasiliensis*; Hs = Alterações nucleares compatíveis com Herpes simples; SK = Lesão oral compatível com sarcoma de Kaposi. *Lesão oral compatível com sarcoma de Kaposi no palato e sem coleta citológica do local. As representações na tabela de diagnósticos incertos estão marcadas em amarelo no seguinte modelo “lesão1, lesão2?”.

A frequência das lesões confirmadas é bastante elevada, como esperado em pacientes com baixa imunidade, 67,2% dos casos. A porcentagem dos pacientes que apresentaram CO foi de 62,1%, e a incidência da LP foi de 24,1%.

Como descrito anteriormente, as lesões encontradas - Herpes simplex, lesão granulomatosa, causada por *Paracoccidioides brasilienses* e lesão neoplásica classificada como sarcoma de Kaposi – somaram 6,8% dos casos (Tabela 7). As frequências, comparando-se a clínica e a citologia, serão demonstradas no item 5.5.

TABELA 7 – FREQUÊNCIA DAS LESÕES DIAGNOSTICADAS NOS PACIENTES SELECIONADOS ENTRE PORTADORES DE HIV INTERNADOS NO HOSPITAL OSWALDO CRUZ – SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, CURITIBA-PR, MARÇO A JULHO DE 2013

Frequência das lesões		
Tipo da lesão	n de pacientes com lesão	%
Candidíase oral	36	62,1
Leucoplasia pilosa	14	24,1
Herpes simplex	2	3,4
Paracoccidioidomicose	1	1,7
Sarcoma de Kaposi	1	1,7
Pacientes com lesão*	39	67,2

NOTA: *Alguns pacientes apresentaram mais de 1 lesão, n=58.

5.4.1 Citologia clínica

As lesões encontradas pela citologia já foram citadas na Tabela 6, segundo os critérios estabelecidos na metodologia do trabalho. Foram 27 lâminas positivas para CO (46,6%) e 13 para LP (22,4%). As características citomorfológicas representativas dessas lesões estão destacadas na Figura 22 e 23, respectivamente. Além dessas lesões, foram identificadas alterações citopáticas compatíveis com Herpes simplex vistas em duas lâminas (3,4%), representada na Figura 24; e 1 lâmina com presença de leveduras sugestivas de *Paracoccidioides brasilienses* (1,7%), ilustrada pela Figura 25, na qual também se observa características de exame histopatológico da lesão, preparado utilizando-se o método de Grocott, do mesmo paciente. Desta forma, observou-se 33 lâminas positivas (56,9%), considerando-se a presença de um ou mais tipos de agentes infecciosos detectados em cada caso.

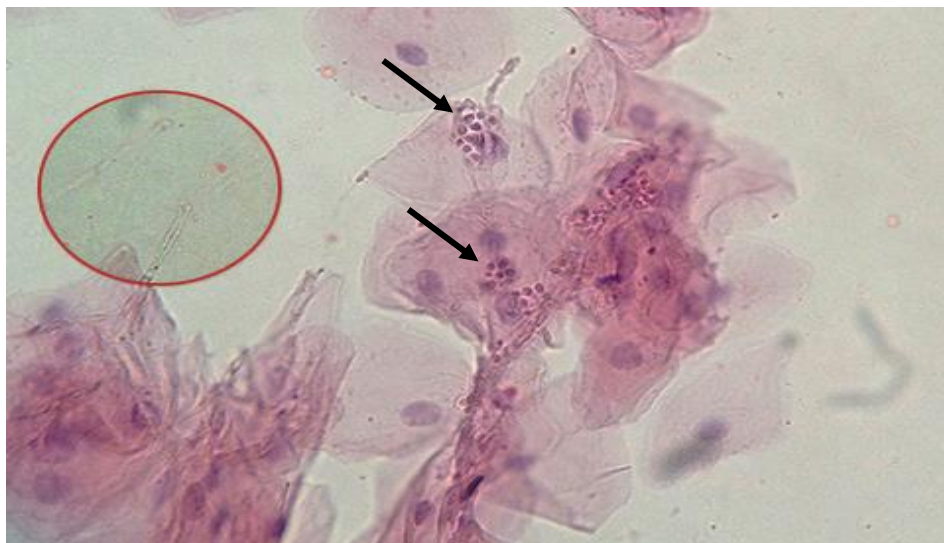


FIGURA 22 – FOTOMICROGRAFIA DE ESTRUTURAS MORFOLOGICAMENTE COMPATÍVEIS COM *Candida* sp. (PAPANICOLAOU, x400)

FONTE: O AUTOR (2013)

NOTA: Aglomerados de leveduras (setas) e estruturas filamentosas. No destaque, presença de pseudo-hifas refringentes mal coradas.

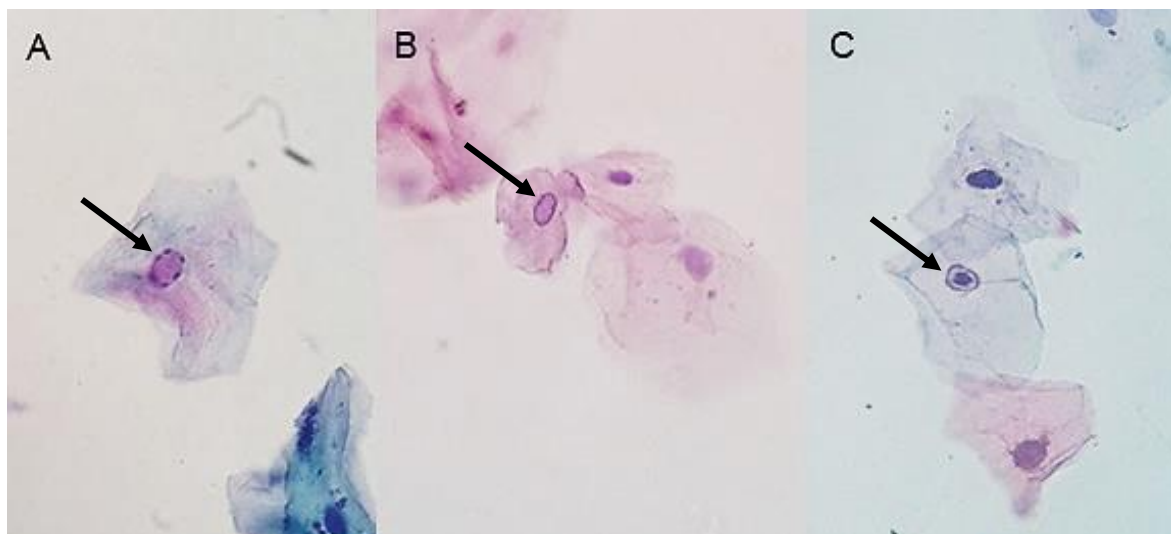


FIGURA 23 – FOTOMICROGRAFIA DE ALTERAÇÕES CITOPÁTICAS COMPATÍVEIS COM LEUCOPLASIA PILOSA (PAPANICOLAOU, x400)

FONTE: O AUTOR (2013)

NOTA: A - núcleo em colar; B - aspecto de vidro fosco; C – inclusão de Cowdry tipo A.



FIGURA 24 – FOTOMICROGRAFIA DE ALTERAÇÕES CITOPÁTICAS COMPATÍVEIS COM HERPES SIMPLES (PAPANICOLAOU, x400)

FONTE: O AUTOR (2013)

NOTA: Multinucleação com amoldamento e homogeneização da cromatina (no destaque).

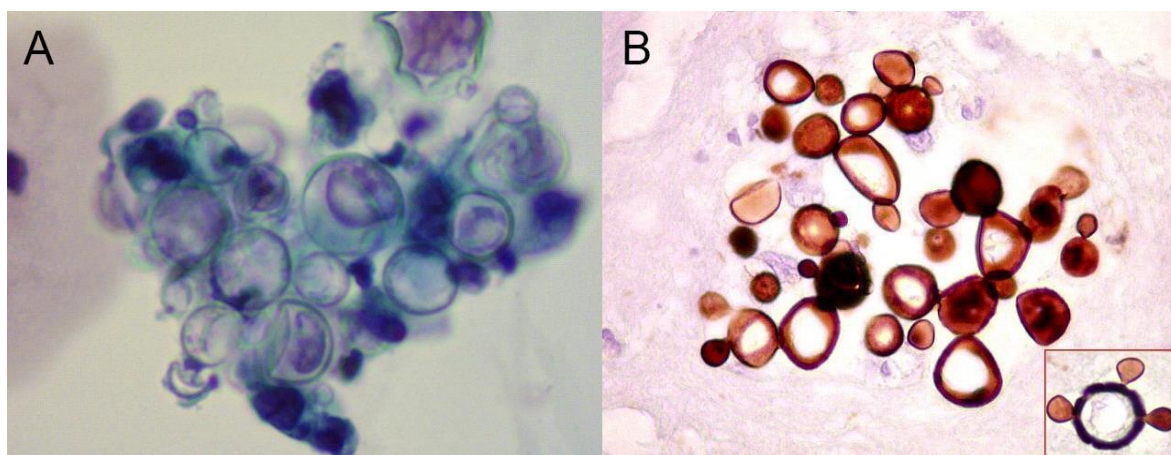


FIGURA 25 – FOTOMICROGRAFIA DE LEVEDURAS DE *Paracoccidioides brasiliensis* (A - PAPANICOLAOU, x1000; B - TÉCNICA DE GROCOTT, x1000)

FONTE: O AUTOR (2013)

NOTA: A - Leveduras com restos leucocitários, citologia em base líquida. B - Leveduras presentes na biópsia. No detalhe inferior direito, levedura com brotamentos, formato de leme, histologia.

5.5 AVALIAÇÃO FÍSICA E CITOLOGIA CLÍNICA

Por avaliação clínica, foram detectados 27 casos de CO. O mesmo número de casos foi observado por exame citológico. Porém, aliando-se a clínica à citologia, o número de casos aumentou para 36 (62,1%). Desta forma, houve discordância em 9 casos e concordância em 18, ao se comparar ambas as técnicas (Figura 26 e 27).

Para a LP, a citologia se mostrou mais sensível, com 13 detecções, sendo que, no exame físico foram encontradas apenas 6 lesões características. A discordância entre os dois métodos foi de apenas 1 caso para a citologia e de 8 casos para o exame clínico (Figuras 26 e 27).

Em dois casos, nos quais a CO apontada pela clínica não foi confirmada pela citologia, a lesão foi esclarecida como LP.

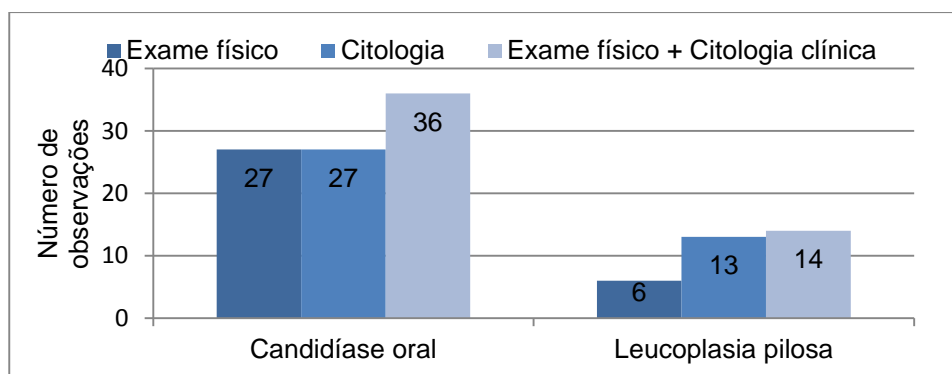


FIGURA 26 - COMPARAÇÃO ENTRE A CITOLOGIA CLÍNICA E O EXAME FÍSICO NA DETECÇÃO DE CANDIDÍASE ORAL E LEUCOPLASIA PILOSA
NOTA: Exame físico + citologia clínica – Resultado do exame físico somados ao resultado da citologia clínica. n=58

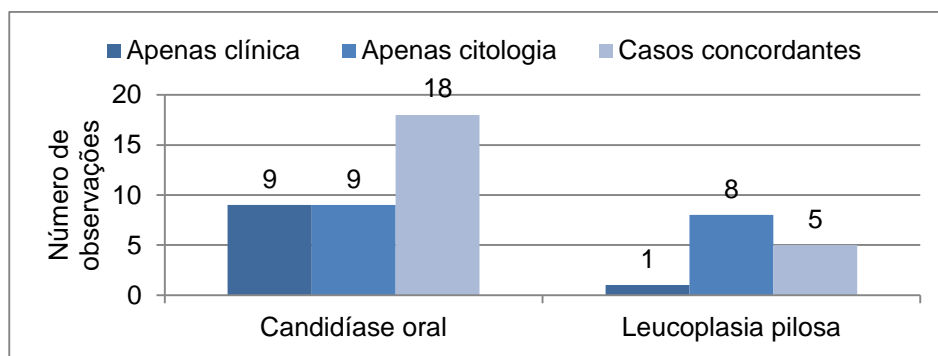


FIGURA 27 - CASOS DE DISCORDÂNCIAS E CONCORDÂNCIAS ENTRE AS TÉCNICAS UTILIZADAS
NOTA: n=58

5.6 LESÕES ORAIS E IMUNIDADE

A incidência das lesões CO e LP ocorreram quase todas em pacientes com contagens de linfócitos T CD4+ abaixo de 250 células/ μ L, exceção de um único paciente que apresentou ambas as lesões mesmo com valores de linfócitos T CD4+ acima de 1000 células/ μ L. A maior incidência de CO e LP, com 6 e 4 casos respectivamente, foram na faixa de linfócitos abaixo de 25 unidades por microlitro (Figura 28).

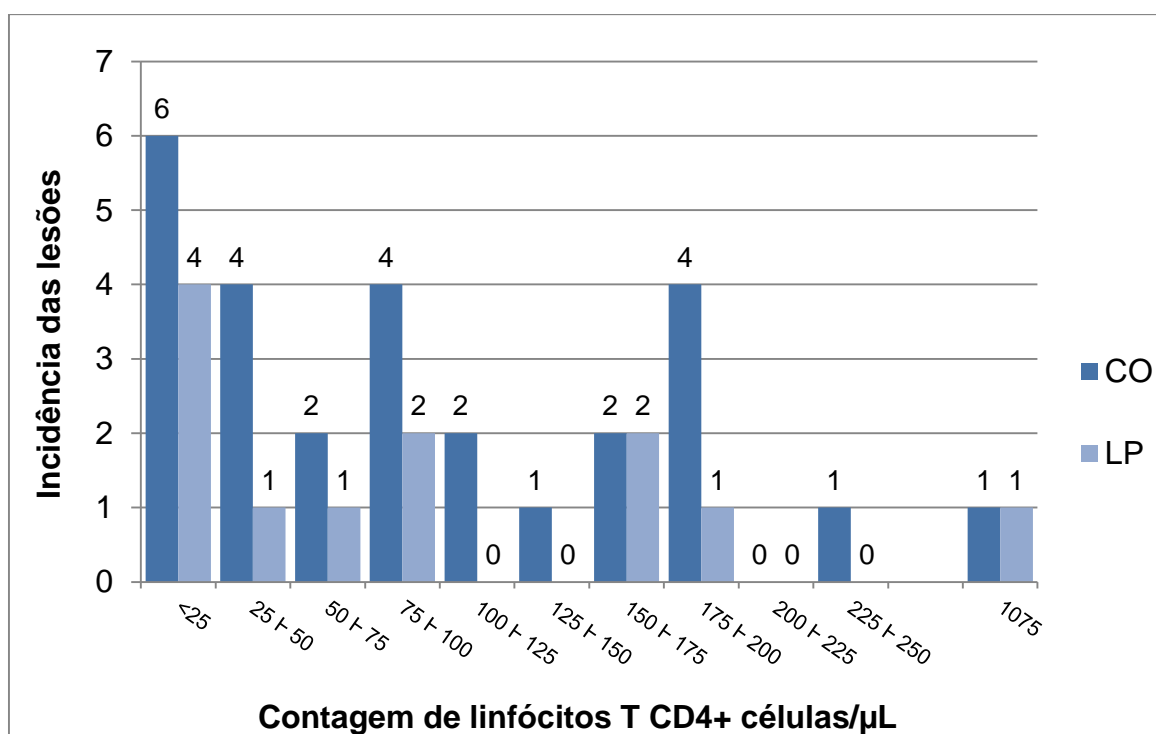


FIGURA 28 - FREQUÊNCIA NA DISTRIBUIÇÃO DAS LESÕES DIVIDIDAS POR FAIXA DE CONTAGEM DE LINFÓCITOS T CD4+

NOTA: CO – candidíase oral; LP – leucoplasia pilosa. n=58

6 DISCUSSÃO

Na história natural da patogênese da AIDS, lesões orais, principalmente as de CO e LP, são consideradas entre os primeiros sinais clínicos, altamente associados à infecção pelo HIV em adultos. Tais lesões têm sido utilizadas como marcadores do início da imunossupressão, ou mesmo, do agravamento da síndrome ocasionado por falha terapêutica. A ferramenta mais utilizada para o diagnóstico dessas lesões é o exame físico do paciente, muitas vezes realizado por cirurgiões dentistas. Uma forma confiável para auxílio ao diagnóstico, entretanto, é a identificação dos microrganismos causadores ou de seus efeitos citopáticos, pela citologia da mucosa oral (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; PATTON *et al.*, 2002; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

O exame citológico de mucosa oral tem sido considerado eficiente na detecção das lesões de CO e LP. DIAS e seus colaboradores (2000) defendem veementemente que as 3 alterações citopáticas nucleares encontradas nas lesões orais causadas pelo EBV são altamente específicas para o diagnóstico de LP. Outros trabalhos demonstram que a citologia é um método confiável e suficiente para essa prática (FRAGA-FERNANDEZ; VICANDI-PLAZA, 1992; MIGLIORATI *et al.*, 1993).

Desta forma, considerou-se na presente pesquisa comparar o exame físico e o exame citológico, para a detecção de lesões orais, procurando-se estabelecer a sua eficácia para auxiliar no melhor acompanhamento de pacientes HIV/AIDS, bem como levantar hipóteses sobre as melhores formas de aplicação desses exames.

Para tanto, julgou-se adequada a escolha de indivíduos internados portadores de HIV/AIDS, que apresentassem sinais de imunossupressão, para este estudo. Para evitar interferência nas comparações a serem estabelecidas, excluiu-se do estudo pacientes para os quais não foi possível o acesso ao prontuário ou então, que o exame físico não pudesse ser feito de forma correta, por exemplo, pacientes com respirador, com dificuldades de abertura do maxilar inferior, ou em casos de comprometimento mental. Da mesma forma, foram excluídos do estudo sobre imunidade, pacientes cujas datas dos resultados dos exames laboratoriais relativos a linfócitos T CD4+ e carga viral excediam o limite

de 30 dias anterior ou posteriormente ao dia do exame clínico e da coleta do material citológico.

6.1 PERFIL DOS PACIENTES

O perfil dos 58 pacientes selecionados para o estudo incluía idades de 23 a 72 anos com média aproximada de 41 anos, sendo a maioria deles do sexo masculino, sem parceiros fixos, com renda menor que 2 salários mínimos, tabagistas e etilistas frequentes, com escolaridade até o ensino médio incompleto. Apenas 33% dos pacientes relataram serem usuários de drogas ilícitas (Figuras 9 e 10; Tabelas 1 e 2). É relevante observar o fato de que 26% dos pacientes se negaram a informar suas respectivas rendas mensais, o que leva à suposição de que poderia haver ainda maior proporção de indivíduos com baixa renda. A situação socioeconômica desses pacientes pode ter contribuído para a necessidade de internamento devido à precariedade de seu estado de saúde. Da mesma forma, a baixa da imunidade dos pacientes deve ter contribuído para as principais causas de internação, que foram em sua grande maioria problemas relacionados a complicações de HIV/AIDS, principalmente pneumopatias (cerca de 33%). Em relação à regularidade do TARV, dos 58 pacientes, apenas 9 (15,5%) relataram utiliza-lo regularmente, 37 (63,8%) não o utilizavam e 10 (17,2%), o faziam de forma irregular. Entre os pacientes que não utilizavam o TARV, alguns não tinham iniciado devido ao diagnóstico recente, enquanto outros não o utilizavam por terem tido resultados indicativos de boa imunidade e carga viral baixa; por terem recusado a medicação sem explicações, por abandono do tratamento devido a efeitos adversos das drogas ou por motivos pessoais não revelados.

De acordo com os prontuários dos pacientes estudados, o tempo decorrido entre o diagnóstico de infecção por HIV e a data dos exames clínico e citológico da mucosa oral realizados nesta pesquisa, foi menor que 20 meses em 19 casos (33,3%). Para os outros pacientes, o tempo decorrido foi entre 20 e 320 meses, com não mais de 5 casos detectados a cada 20 meses de intervalo (Figura 11). Estes dados podem sugerir algumas hipóteses, entre elas de que o

número de mortes poderia ter aumentado após 20 meses de diagnóstico, devido à baixa adesão ao tratamento observada, reduzindo consequentemente o número de pacientes internados com um tempo maior de diagnóstico. Outra possibilidade seria, devido ao trabalho educativo realizado pelas equipes multidisciplinares do SUS, a adesão se tornaria mais efetiva, diminuindo o número de coinfeções e a necessidade de internação do paciente.

6.2 SISTEMA IMUNE E CARGA VIRAL

As análises da contagem de linfócitos T CD4+, % de linfócitos T CD4+ e carga viral sérica se basearam nos exames realizados no período de ± 1 mês em relação à data do atendimento. Para tanto, os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com a adesão ao TARV. No grupo T1, de pacientes que nunca tomaram ou abandonaram o TARV, os valores médios para contagem linfócitos T CD4+ foram de $87,9 \pm 98,7$ células/ μ L; no grupo T2, de pacientes em tratamento regular, de $624,6 \pm 359,3$ células/ μ L; e, no grupo T3, de pacientes que estavam em TARV, porém não o utilizavam regularmente, de $111,4 \pm 85,5$ células/ μ L. Para estes cálculos, foram removidos dois resultados *outliers* extremos para se evitar desvios nos valores médios, sendo o primeiro de 1075 células/ μ L, de um paciente do grupo T1 e, o segundo, de 623 células/ μ L, de um paciente do grupo T3. Os resultados encontrados para o teste de Mann-Whitney indicaram valor de $p < 0,05$ para comparação entre T1 e T2 e $p > 0,05$ na comparação entre T1 e T3. Neste caso, T1 e T3 são estatisticamente semelhantes e T1 e T2 são consideradas diferentes para a variável analisada.

Em relação à % de linfócitos T CD4+, obteve-se valores médios de $9,9 \pm 7,8$ % no grupo T1; $28,1 \pm 13,0$ % no grupo T2; e de $13,3 \pm 10,3$ % no grupo T3. Para a determinação da carga viral, observou-se valores médios de $94269,5 \pm 145102,5$ cópias/ml para o grupo T1; de $8570,9 \pm 22534,8$ cópias/ml para o grupo T2; e, de $22823,9 \pm 23085,6$ cópias/ml para o grupo T3.

Os resultados encontrados para o teste de Mann-Whitney foram semelhantes aos da contagem de linfócitos T CD4+, tanto para % de linfócitos T CD4+, quanto para a carga viral sérica, sendo $p < 0,05$ entre T1 e T2; e $p > 0,05$

entre T1 e T3. Desta forma, no que se refere à imunidade e à dosagem de carga viral, as populações T1 e T2 são consideradas diferentes, enquanto as populações T1 e T3 são semelhantes.

De acordo com os resultados acima, pode-se sugerir que a não adesão ao TARV, seja por não tomar os medicamentos ou tomá-los irregularmente, leva os pacientes com HIV/AIDS à imunodepressão aliada ao aumento da carga viral. Desta forma, pode-se dizer que não há diferença significativa no que se refere a esses itens, entre grupos que não usam e grupos que usam irregularmente esta medicação. Segundo o Ministério da Saúde (2013a), a falta de regularidade na tomada dos medicamentos ainda pode ser a causadora do aparecimento de cepas resistentes do HIV, sendo mais difícil ainda resgatar o tratamento.

Quanto às lesões orais, o atual trabalho enfatizou que a mais frequente em pacientes HIV positivos é a CO, presente em 62,1% dos casos, seguida pela LP, em 24,1% (Tabela 7). Além disso, outras lesões relacionadas ao HIV foram diagnosticadas, como sarcoma de Kaposi, Herpes simplex e paracoccidioidomicose (Tabelas 6 e 7), todas listadas nas alterações relacionadas à progressão do HIV no paciente portador, de acordo com citações dos textos consultados (EC-CLEARINGHOUSE; WHO, 1993; CDC, 2008; BRASIL. Ministério da Saúde, 2013a).

6.3 ADESÃO AO TARV E A IMUNIDADE

Ficou comprovado, através dos experimentos realizados neste trabalho, pela aplicação dos testes estatísticos, que a adesão ao TARV é um fator de extrema importância. Houve diferença entre o grupo que utilizava o medicamento corretamente e os grupos que não o utilizavam ou utilizavam de forma incorreta foi comprovada pelo teste de Mann-Whitney U, tanto na determinação do número de linfócitos T CD4+ e de sua porcentagem, quanto na dosagem da carga viral. Foi observado apenas 1 caso no grupo T2 (grupo de adesão – considerando relato do paciente) em que a carga viral foi detectável, ou seja, estava acima do nível mínimo para detecção pela técnica utilizada (>50 cópias/mL). Isso reforça a

importância das informações contidas no último manual do Ministério da Saúde (2013a), que defendem os aspectos educativos da adesão ao medicamento.

6.4 LESÕES ORAIS E IMUNIDADE

Como descrito na literatura (MIZIARA; LIMA; CORTINA, 2004), as lesões orais por CO e LP apareceram somente com contagens de linfócitos T CD4+ abaixo de 250 células/ μ L, com exceção do caso 27, que foi o único que apresentou ambas as lesões, e que parecia apresentar boa imunidade, com 1075 linfócitos T CD4+/ μ L.

No grupo de pacientes com contagens de linfócitos T CD4+ acima de 500 células/ μ L (n=6) foi observada incidência de 16,7% de lesões orais, com apenas um paciente com lesões positivas para CO e LP. Esta incidência foi muito baixa em relação a obtida considerando-se todos os pacientes, de 67,2%. Deve-se considerar que não se conseguiu avaliar de modo eficiente a presença das lesões nesse grupo, devido ao pequeno número de casos. Desta forma, é válida a sugestão de um estudo mais amplo com pacientes portadores de HIV não internados, para determinar com melhor precisão a faixa real de contagem de linfócitos T CD4+ em que as lesões se apresentam.

Os resultados relacionados ao paciente 27 foram atípicos em relação aos outros dados do trabalho. Para os testes estatísticos de contagem de linfócitos T CD4+, removeu-se o dado, devido o comportamento de extremo *outlier* (Figuras 12 e 13). Com uma dosagem de carga viral de 30954 cópias/mL e com a contagem de linfócitos em 1075 células/ μ L, esse caso foi o que apresentou números atípicos para pacientes que não estavam em TARV. Também foi o único paciente que apresentou lesão – nesse caso, ambas as lesões – com contagens de linfócitos T CD4+ acima de 250 células/ μ L.

Analisando os dados do paciente, trata-se de um recém diagnosticado para HIV, em menos de 1 mês. O paciente nunca havia iniciado o TARV, devido ao recente diagnóstico e à alta contagem dos linfócitos T CD4+. Por hipótese, trata-se de um caso de SRA. É interessante evidenciar que, mesmo um paciente na fase inicial, pode apresentar lesões orais tais como LP e CO. Isso corrobora a

premissa do presente trabalho, de detectar as lesões precocemente, no início da imunossupressão. O rastreamento de lesões podem identificar casos como esse, com pouco tempo de infecção.

6.5 CITOLOGIA CLÍNICA

Pelo exame citológico, confirmou-se 26 lesões sugeridas pelo exame clínico, sendo que destas, 4 haviam sido detectadas, porém não classificadas pelo exame clínico. Detectou-se pelo exame citológico, 18 casos em que o exame clínico não havia detectado as lesões, possivelmente por estarem em fase subclínica.

Os resultados mais conflitantes ficam evidentes na detecção da CO, para a qual a citologia clínica apresentou 9 casos de discordâncias em relação ao exame clínico. Sabendo-se que a *Candida albicans* é o patógeno mais isolado da boca (VILLAÇA; MACHADO, 2004; GIANNINI; SHETTY, 2011; KRISHNA; ZEMSE; DEROSI, 2011; VASELIU; KAMIRU; KABUE, 2011), sugere-se novos estudos para verificar a significância clínica desses achados. Tanto para a detecção das lesões pelo exame clínico quanto na coleta e na observação dos microrganismos no exame citológico.

Na detecção citológica da LP, durante a leitura, a detecção do núcleo em colar era mais facilmente identificada pelos citologistas do que as outras alterações. O aspecto de vidro fosco foi o de menor observação e de menor segurança para confirmar o laudo. Todas as lâminas positivas para LP apresentaram núcleo em colar, porém, nem todas, apresentaram núcleo com aspecto de vidro fosco ou inclusões de Cowdry tipo A.

Os resultados deste trabalho confirmam os de outros autores, que já afirmaram que o número de casos positivos para LP na citologia indica que se trata de uma metodologia capaz de rastrear essa lesão em sua fase subclínica (FRAGA-FERNANDEZ; VICANDI-PLAZA, 1992; MIGLIORATI *et al.*, 1993; DIAS *et al.*, 2000).

6.6 A CLÍNICA ALIADA À CITOLOGIA

Os resultados indicam que, a associação entre o exame clínico e a citologia clínica, podem detectar mais lesões do que uma das técnicas isoladas. Quando o diagnóstico foi realizado com base nas duas metodologias, um número superior de lesões foi observado quando comparado com os achados isolados da clínica ou da citologia.

Para aumentar a significância clínica dos achados, é de interesse que este estudo seja aprofundado, comparando-se as metodologias estudadas com outras metodologias. No caso da CO, sugere-se comparar achados citológicos e clínicos com a cultura isolada do fungo, ou então, utilizar outros métodos de coloração, tais como PAS, bem como o acompanhamento terapêutico dos pacientes após o tratamento com antifúngico, método já descrito em literatura (EC-CLEARINGHOUSE e WHO, 1993). Para a LP, testes de biologia molecular – PCR ou hibridização *in situ* – podem ser testados juntamente com a citologia para verificar a significância clínica dos achados.

CONCLUSÃO

No estudo da análise comparativa entre os exames clínico e citológico da mucosa oral para a detecção de candidíase oral e de leucoplasia pilosa, em pacientes portadores de HIV atendidos no Hospital Oswaldo Cruz, Curitiba-PR, de março a julho de 2013, pode-se concluir que:

- a) Os 58 pacientes que participaram do estudo eram adultos com idade média de 41 anos, a maioria do sexo masculino, sem parceiros fixos, com renda menor que 2 salários mínimos, tabagistas e etilistas frequentes, com escolaridade até o ensino médio incompleto, e cujo principal motivo de internação era a falta de adesão ao tratamento antirretroviral, e a consequente suscetibilidade a coinfeções, especialmente as causadoras de pneumopatias;
- b) A citologia em meio líquido demonstrou ser bastante útil no rastreio das lesões orais. Isoladamente, ela tem um grande potencial, por ser um exame simples e rápido, podendo ser repetida, sempre que necessário, para eventuais esclarecimentos;
- c) O exame clínico e citológico são complementares. Quando o diagnóstico é realizado utilizando-se as duas metodologias, aumenta-se a sensibilidade para a detecção das lesões orais, além do fato da citologia confirmar o diagnóstico;
- d) Houve alta incidência das lesões orais em pacientes HIV/AIDS, sendo a candidíase oral a mais frequente (62,1%), seguida da leucoplasia pilosa oral (24,1%) e outras lesões (6,8%), confirmando sua relação com a situação da imunidade do paciente;
- e) Houve diminuição do número de lesões orais relacionada com o aumento da contagem dos linfócitos T CD4+ em portadores de HIV,

com concentração das lesões na faixa de contagem de linfócitos abaixo de 250 células/ μ L;

- f) O exame citológico foi mais sensível na detecção da leucoplasia pilosa comparada ao exame clínico, detectando inclusive a fase subclínica da lesão.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Practice Guideline for the Treatment of Patients With HIV/AIDS**. 1ª Ed. Washington. 2005.

AUERBACH, D. M. *et al.* A cluster of cases of the acquired immune deficiency syndrome: patients linked by sexual contact. **American Journal of Medicine**; 76(3):487-92. 1984.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Infecção pelo HIV no Brasil mantém-se estável**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/noticia/infeccao-pelo-hiv-no-brasil-mantemse-estavel>>. Acesso em: 20/07/2012. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Legislação da Saúde. **Portaria nº 59 de 28 de janeiro de 2003**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2003/prt0059_28_01_2003.html>. Acesso em: 16/05/2013. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, **Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde, 2004**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/527f3180474574cf82f7d63fbc4c6735/mod_7_2004.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 02/02/2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV, 2008**. Brasília, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV - 2008**. Suplemento III - Tratamento e prevenção. Brasília, 2010

BRASIL. Ministério Da Saúde. Departamento de DST, Aids e hepatites virais. **Protocolo Clínico E Diretrizes Terapêuticas Para Manejo Da Infecção Pelo Hiv Em Adultos**. Brasília, 2013a.

BRASIL. Ministério Da Saúde. Departamento de DST, Aids e hepatites virais. **Manual Técnico Para O Diagnóstico Da Infecção Pelo Hiv**. Brasília, 2013b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Legislação da Saúde. **Portaria nº 29, de 17 de dezembro de 2013**. Aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV em Adultos e Crianças e dá outras providências. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs/2013/prt0029_17_12_2013.html>. Acesso em: 06/02/2014. 2013c.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim epidemiológico: HIV AIDS**. Ano II – nº1. Brasília. 2013d.

BRASIL. Ministério da Saúde – Departamento de DST, Aids e Hepatites virais. **Quais são os antirretrovirais**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/quais-sao-os-antirretrovirais>>. Acesso em: 14/01/2014.

CARVALHO, G. **Citologia Oral**. 1ªEd. Editora Revinter Ltda: Rio de Janeiro. 2002.

CASTRO, A. L. **Estomatologia**. 1ª Ed. Editora Livraria Santos: São Paulo. 1992.

CDC. A cluster of Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis carinii* pneumonia among homosexual male residents of Los Angeles and Orange counties. **Morbidity and Mortality Weekly Report**; 31(23):305-7. 1982a.

CDC. Task Force on Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. Epidemiologic aspects of the current outbreak of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. **The New England Journal of Medicine**; 306(4):248-52. 1982b.

CDC. Division of HIV/AIDS Prevention, National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention. Revised Surveillance Case Definitions for HIV Infection Among Adults, Adolescents, and Children Aged <18 Months and for HIV Infection and AIDS Among Children Aged 18 Months to <13 Years. **Morbidity and Mortality Weekly Report**; 57(RR10):1-8. 2008.

CIBAS, E. S.; DUCATMAN, B. S. **cytology, diagnostic principles and clinical correlates**. 3ª Ed. Elsevier Saunders: Philadelphia. 2009.

CURRAN, J. W.; JAFFE, H. W. AIDS: the Early Years and CDC's Response. **Morbidity and Mortality Weekly Report. Supplements**; 60(04):64-69. 2011.

DAAR, E. S. *et al.* Diagnosis of Primary HIV-1 Infection. **Annals of Internal Medicine**; 134(1):25-29. 2001.

DIAS, E. P. *et al.* Oral Hairy Leukoplakia Histopathologic and Cytopathologic Features of a Subclinical Phase. **American Journal of Clinical Pathology**; 114(3):395-401. 2000.

DOURADO, I. *et al.* Tendências da epidemia de Aids no Brasil após a terapia anti-retroviral. **Revista de Saúde Pública**; 40:9-17. 2006.

EC Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Human Immunodeficiency Virus. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. **Journal of Oral Pathology & Medicine**; 22:289-291. 1993.

EDWARDS, E. J. J. **Candida Species. In principles and Practice of infectious diseases, G. L. Mandell, R. G. Douglas, and J. E. Bennett.** 7^a Ed. Churchill Livingstone: New York. 1990.

EPSTEIN, M. A.; ACHONG, B. G., BARR, Y. M. Virus Particles In Cultured Lymphoblasts From Burkitt's Lymphoma. **Lancet**; 28(15):702-703. 1964.

FLANIGAN, T.; TASHIMA, K. T. Diagnosis of Acute HIV Infection: It's Time To Get Moving!. **Annals of Internal Medicine**; 134(1):75-77. 2001.

FRAGA-FERNÁNDEZ, J. *et al.* Oral hairy leukoplakia: a histopathologic study of 32 cases. **The American Journal of Dermatopathology**; 12(6):571-8. 1990.

FRAGA-FERNANDEZ, J.; VICANDI-PLAZA, B. Diagnosis of hairy leukoplakia by exfoliative cytologic methods. **American Journal of Clinical Pathology**; 97(2):262-6. 1992.

FRANKEL, A.D.; YOUNG, J. A. HIV-1: Fifteen proteins and an RNA. **Annual Review of Biochemistry**; 67:1-25. 1998.

GIANNINI, P. J.; SHETTY, K. V. Diagnosis And Management Of Oral Candidiasis. **Otolaryngologic Clinics of North America**; 44:231-240. 2011.

GOLDMAN, L.; SCHAFFER, A. I. **Goldman's Cecil Medicine.** 24^a Ed. Elsevier Saunders: Philadelphia. 2012.

GREENSPAN, D. *et al.* Oral "hairy" leucoplakia in male homosexuals: evidence of association with both papillomavirus and a herpes-group virus. **The Lancet**; 13;2(8407):831-4. 1984.

GREENSPAN, J. S. *et al.* Comparison of cytopathic changes in oral hairy leukoplakia with in situ hybridization for EBV DNA. **Oral Diseases**; 4(2):95-9. 1998.

GULLEY, M. L. Molecular Diagnosis of EBV-Related Diseases. **Journal of Molecular Diagnostics**; 3(1):1-10. 2001.

HENRY, J. B. **Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods**. 22^a Ed. Elsevier Saunders: Philadelphia. 2011.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. Virology Division. **Virus Taxonomy: 2012 Release. EC 44**. Leuven, July 2012. Disponível em: <<http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>>. Acesso em: 03/02/2014.

JAFFE, H. W. *et al.* National case-control study of Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis carinii* pneumonia in homosexual men: Part 1. Epidemiologic results. **Annals of Internal Medicine**; 99(2):145-51. 1983.

KNIPE, D.; HOWLEY, P. **Fields Virology**. 4^a Ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia. 2001.

KOSS, L. G.; MELAMED, M. R. **Koss' Diagnostic Cytology And Its Histopathologic Bases**. 5^a Ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia 2006.

KRISHNA, R.; ZEMSE, S.; DEROSI, S. **Individuals with HIV/AIDS: Clinical Manifestations in the Oral Cavity in the Post-HAART Era, Global View of HIV Infection**. Ed. InTech. 2011. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/global-view-of-hiv-infection/individuals-with-hiv-aids-clinical-manifestations-in-the-oral-cavity-in-the-post-haart-era>>. Acesso em: 06/02/2014.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins e Cotran Patologia: Bases patológicas das doenças**. 7^a Ed. Elsevier: Rio de Janeiro. 2005.

LEVI, G. C.; VITÓRIA, M. A. Fighting against AIDS: the Brazilian experience. **AIDS**; 16(18):2373-83. 2002.

LO, H-J. *et al.* Nonfilamentous *C. albicans* Mutants are Avirulent. **Cell**; 90(5):939-49. 1997.

LÖNING, T. *et al.* In situ hybridization to detect Epstein-Barr virus DNA in oral tissues of HIV-infected patients. **Virchows Archiv. A, Pathological anatomy and histopathology**; 412(2):127-33. 1987.

LYNCH, D. P.; MEMPHIS, T. Oral candidiasis: history, classification, and clinical presentation. **Oral surgery oral medicine oral pathology**; 78(2):189-93. 1994.

MABRUK, M. J. E. M. *et al.* Detection of Epstein-Barr virus DNA in tongue tissues from AIDS autopsies without clinical evidence of oral hairy leukoplakia. **Journal of Oral Pathology & Medicine**; 24(3):109-12. 1995.

MARCUCCI, G. Fundamentos de Odontologia: Estomatologia. 1ª Ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. 2005.

MEHROTRA, R. The role of cytology in oral lesions: a review of recent improvements. **Diagnostic Cytopathology**; 40(1):73-83. 2011.

MIGLIORATI, Cesar A.; JONES, Anne Cale; BAUGHMAN, Patricia A. Use of exfoliative cytology in the diagnosis of oral hairy leukoplakia. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**; 76(6):704-10. 1993.

MIZIARA, I. D.; ADRIANA, L.; CORTINA, R. A. C. Candidíase oral e leucoplasia pilosa como marcadores de progressão da infecção pelo HIV em pacientes brasileiros. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**; 70(3): 310-314. 2004.

NEVILLE, B.W. *et al.* **Patologia oral & maxilofacial**. 3ª Ed. Elsevier: Rio de Janeiro. 2009.

NIEDOBITEK, G. *et al.* Epstein-Barr virus infection in oral hairy leukoplakia: virus replication in the absence of a detectable latent phase. **Journal of General Virology**; 72:3035-3046. 1991.

PARHAM, P. **The Immune System**. 3ª Ed. Editora Garland Science, Taylor & Francis Group: New York. 2009.

PATTON, L. L. *et al.* Prevalence and classification of HIV-associated oral lesions. **Oral Diseases**; 8(Suppl. 2):98-109. 2002.

PEDERSEN, Court *et al.* Clinical course of primary HIV infection: consequences for subsequent course of infection. **British Medical Journal**; 299(6692):154-7 1989.

PINTO, D. S. Sociedade Brasileira De Estomatologia E Patologia Oral. **O que é estomatologia?**. Disponível em: <<http://www.estomatologia.com.br/estomatologia.asp>>. Acesso em: 18/02/2014.

QUEIROZ, L. S. **Técnicas Histológicas Empregadas No Departamento De Anatomia Patológica - FCM - Unicamp**. Disponível em: <<http://anatpat.unicamp.br/tecnicashistologicas.html>>. Acesso em: 10/02/2014.

ROGERS, M. F. *et al.* National case-control study of Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis carinii* pneumonia in homosexual men: Part 2. Laboratory results. **Annals of Internal Medicine**; 99(2):151-8. 1983.

SEVERE, P. *et al.* Early versus Standard Antiretroviral Therapy for HIV-Infected Adults in Haiti. **The New England Journal of Medicine**; 363:257-265. 2010.

SOLOMONS, H. D. Infectious mononucleosis or glandular fever revisited. **Germes**; 2(4):148-51. 2012.

TEIXEIRA, P. R.; VITÓRIA, M. A.; BARCAROLO, J. Antiretroviral treatment in resource-poor settings: the Brazilian experience. **AIDS**; 18(Suppl 3):S5-7. 2004.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4ª Ed. Atheneu: Rio de Janeiro. 2004.

UNAIDS. JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. **UNAIDS World AIDS Day Report – 2011**. Disponível em: <<http://www.unaids.org/en/resources/publications/2011/>>. Acesso em: 20/07/12.

VASELIU, N.; KAMIRU, H.; KABUE, M. **HIV Curriculum for the health professional**. Disponível em: <[www.baylorids.org /HIV-curriculum/](http://www.baylorids.org/HIV-curriculum/)>. Acesso em: 23 de julho de 2012. p 184-93, 2011.

VILLAÇA, J. H.; MACHADO, A. A. A Aids e Suas Manifestações Orais e Peridontais: revisão de literatura. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**; 58(3):228-30. 2004.

WALLING, D. M. *et al.* The Molecular Epidemiology and Evolution of Epstein-Barr Virus: Sequence Variation and Genetic Recombination in the Latent Membrane Protein-1 Gene. **The Journal of Infectious Diseases**; 179:763–74. 1999.

YANG, Y-L. Virulence Factors of Candida Species. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**; 36:223-228. 2003.

WALLING, D. M. Oral Hairy Leukoplakia: An Epstein-Barr Virus-Associated Disease of Patients with HIV. 2000. **The Body**. Disponível em: <<http://www.thebody.com/content/art16898.html>>. Acesso em: 06/02/2014

ANEXO I – CONDIÇÕES DEFINIDORAS DA AIDS

AIDS-Defining Conditions

- Bacterial infections, multiple or recurrent*
- Candidiasis of bronchi, trachea, or lungs
- Candidiasis of esophagus[†]
- Cervical cancer, invasive[§]
- Coccidioidomycosis, disseminated or extrapulmonary
- Cryptococcosis, extrapulmonary
- Cryptosporidiosis, chronic intestinal (>1 month's duration)
- Cytomegalovirus disease (other than liver, spleen, or nodes), onset at age >1 month
- Cytomegalovirus retinitis (with loss of vision)[†]
- Encephalopathy, HIV related
- Herpes simplex: chronic ulcers (>1 month's duration) or bronchitis, pneumonitis, or esophagitis (onset at age >1 month)
- Histoplasmosis, disseminated or extrapulmonary
- Isosporiasis, chronic intestinal (>1 month's duration)
- Kaposi sarcoma[†]
- Lymphoid interstitial pneumonia or pulmonary lymphoid hyperplasia complex^{*†}
- Lymphoma, Burkitt (or equivalent term)
- Lymphoma, immunoblastic (or equivalent term)
- Lymphoma, primary, of brain
- *Mycobacterium avium* complex or *Mycobacterium kansasii*, disseminated or extrapulmonary[†]
- *Mycobacterium tuberculosis* of any site, pulmonary,^{†§} disseminated,[†] or extrapulmonary[†]
- *Mycobacterium*, other species or unidentified species, disseminated[†] or extrapulmonary[†]
- *Pneumocystis jirovecii* pneumonia[†]
- Pneumonia, recurrent^{†§}
- Progressive multifocal leukoencephalopathy
- *Salmonella* septicemia, recurrent
- Toxoplasmosis of brain, onset at age >1 month[†]
- Wasting syndrome attributed to HIV

* Only among children aged <13 years.

[†] Condition that might be diagnosed presumptively.

[§] Only among adults and adolescents aged ≥13 years.

ANEXO II – APROVAÇÃO DO CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Sensibilidade e especificidade da detecção de lesões orais para a avaliação do prognóstico de pacientes com positividade para o vírus da imunodeficiência humana (HIV)

Pesquisador: Thiago Beltrami Dias Batista

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 10747312.3.0000.0102

Instituição Proponente: Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 235.835

Data da Relatoria: 03/04/2013

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa de Dissertação de Mestrado proveniente do Programa do Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, sob orientação da Prof. Maria Suely Soares Leonart. A análise de mérito foi elaborada pela Prof. Aline Borsato Hauser, que descreve que o projeto tem fundamentação bibliográfica e metodologia adequadas. Os pesquisadores descrevem que a SIDA é um problema de Saúde Pública, cujo tratamento tem proporcionado maior sobrevida e diminuição da ocorrência de infecções oportunistas nos pacientes. No entanto, estes resultados são obtidos na dependência da época do diagnóstico, pois se o início do tratamento com antirretrovirais ocorre quando a contagem de linfócitos T CD4+ entre 200 e 350 células por milímetro cúbico, o número de mortes cai em até 75% e a incidência da tuberculose cai em 50% dos casos se comparado aos pacientes que iniciam o tratamento com a contagem de T CD4+ com valores abaixo de 200 cel/mm³. Os pesquisadores descrevem ainda que o diagnóstico de lesões orais como a leucoplasia pilosa e a candidíase pode indicar queda na imunidade e pode ser marcador de progressão da AIDS nos indivíduos infectados.

Objetivo da Pesquisa:

Geral: Comparar a sensibilidade e a especificidade da detecção de leucoplasia pilosa e de candidíase oral por citologia oral e do exame visual para prever diminuição da imunidade de

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2ª andar

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



pacientes HIV positivos, correlacionando os seus resultados com as taxas de contagem de linfócitos T CD4+ e carga viral sérica.

Específicos: 1) Realizar exame físico e o exame citológico em cavidade oral de pacientes adultos HIV positivos atendidos pelo Hospital Oswaldo Cruz, classificados por sexo e por tipo de tratamento realizado, em busca de lesões sugestivas de infecção por *Candida spp* e de leucoplasia pilosa; 2) Determinar a incidência das lesões de LP e CO, bem como a sensibilidade e a especificidade dos exames testados para a predição de imunossupressão, correlacionando os resultados obtidos com os valores de células T CD4+ e da carga viral do paciente, no momento da coleta.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos relacionados à pesquisa foram previstos e as medidas adotadas para minimizá-los descritas. Da mesma forma, os benefícios da pesquisa foram estabelecidos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa que prevê a criação de biorrepositório, com armazenamento do material coletado para utilização em pesquisas futuras.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos foram apresentados.

Recomendações:

Observar que existe regulamentação sobre biorrepositórios e armazenamento de tecidos humanos (portaria 441/2011 e normativa 2201/2011). A UFPR publicou em setembro de 2012 a Resolução do CEPE 40/12 que trata do tema na instituição.

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A declaração final modelo CONEP, onde o Co participante declara ter lido e concordar com o Parecer deste CEP/SD, encontra-se anexada, o projeto está aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Avaliação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

UF: PR

Telefone: (41)3360-7259

Município: CURITIBA

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ - SETOR DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Considerações Finais a critério do CEP:

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

- Corrigir no Sistema/Projeto PB: o Cronograma de Execução do projeto, com data de início posterior a aprovação pelo CEP/SD, e demais datas quando couber

CURITIBA, 03 de Abril de 2013

Assinador por:
Claudia Seely Rocco
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 280

Bairro: 2º andar

UF: PR

Município: CURITIBA

Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO III – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, Thiago Beltrami Dias Batista, Prof.^a Maria Suely Soares Leonart, Prof. Antônio Adilson Soares de Lima e Prof. Sandro Germano, pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, estamos convidando você, a participar de um estudo intitulado **“SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DA DETECÇÃO DE LESÕES ORAIS PARA A AVALIAÇÃO DO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM POSITIVIDADE PARA O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)”**, que vai pesquisar a eficácia na detecção da baixa da imunidade nos pacientes portadores do HIV. É através de pesquisas como esta que ocorrem os avanços na medicina e sua participação é de fundamental importância.

- a) O objetivo desta pesquisa é estudar a eficácia do exame odontológico e do estudo das células da boca para descobrir se o paciente portador de HIV está apresentando baixa da imunidade, ou seja, se a sua condição está se agravando.
- b) Caso você concorde em participar da pesquisa, seus dados pessoais (como idade e histórico clínico) serão coletados. Sua participação no estudo será através de um exame visual da boca, e em seguida, será necessário coletar uma amostra de material bucal, procedimento não invasivo, para a realização de um exame de citologia esfoliativa, que consiste na raspagem suave de uma escova com cerdas macias na borda lateral da sua língua. Este procedimento é indolor, porém ocasionalmente pode promover um leve desconforto compatível a sensação de toque com leve ardência quando feridas encontrarem-se expostas em boca, não há risco de sangramento nem de agravamento da lesão.
- c) A amostra será coletada no próprio Hospital Oswaldo Cruz.
- d) O material coletado será depositado em uma lâmina e identificado com um código, garantindo que seu nome não seja divulgado.
- e) Os benefícios esperados com essa pesquisa são: 1) Melhor conhecimento sobre os exames empregados no acompanhamento de pacientes com HIV/AIDS; 2) Possibilidade de uso de um exame simples e não invasivo como auxílio à avaliação da imunidade de pacientes com HIV/AIDS; 3) Possibilitar o achado de novos pacientes de HIV/AIDS em populações de risco; 4) A pesquisa também auxiliará no tratamento das lesões orais quando presentes; 5) No entanto, nem sempre você será diretamente beneficiado com o resultado da pesquisa, mas contribuirá para o avanço científico.
- f) Os pesquisadores responsáveis por este estudo: Thiago Beltrami Dias Batista (tbd Batista@gmail.com) e Prof. Dra. Maria Suely Soares Leonart (msue@ufpr.br) farmacêuticos, poderão ser contatados de segunda a sexta-feira, das 14 às 18h, no Laboratório de Citologia Clínica da Universidade Federal do Paraná, situado na Rua Lothário Meissner, 632 – Jardim Botânico, Curitiba – PR, ou pelo telefone (41) 3360-4088, para esclarecer eventuais dúvidas que você possa ter e fornecer-lhe as informações que queira, antes, durante ou depois de encerrado o estudo.
- g) A sua participação neste estudo é voluntária e se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá desistir a qualquer momento, sem nenhum tipo de penalização, e solicitar que lhe devolvam o termo de consentimento livre e esclarecido assinado.

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientadora _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

- h) A coleta, tanto dos dados do prontuário, como do material citológico, será realizada pelo pesquisador Thiago Beltrami Dias Batista, pelo Dr. Antonio Adilson Soares de Lima, pela Dra. Francisca Berenice Dias Gil e pela aluna de graduação de odontologia da Universidade Federal do Paraná, Paola Fernanda Cotait de Lucas Corso. Os exames físicos serão realizados pelos Drs. Antonio Adilson Soares de Lima e Francisca Berenice Dias Gil, os quais serão responsáveis pelo acompanhamento dos pacientes dentro do hospital, pelo tratamento das lesões, quando necessário, e encaminhamento, após a alta, para o atendimento odontológico que será realizado na unidade de odontologia da Universidade Federal do Paraná.
- i) Todos os dados coletados serão mantidos de forma confidencial. Os dados coletados serão usados para a avaliação do estudo. Membros das Autoridades de Saúde ou do Comitê de Ética podem revisar os dados fornecidos. Os dados também podem ser usados em publicações científicas sobre o assunto pesquisado. Porém, sua identidade não será revelada em qualquer circunstância. Se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida.
- j) As despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames laboratoriais) não são de sua responsabilidade e pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.
- k) O processamento de sua amostra biológica resultará em lâminas de citologia, que serão armazenadas no Laboratório de Citologia da UFPR e poderão ser utilizadas para estudos futuros, desde que pertinentes e devidamente aprovados por Comitê de Ética.

Eu, _____ li esse termo de consentimento e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual concordei em participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que esta decisão afete meu tratamento. Eu fui informado que serei atendido sem custos para mim se eu apresentar algum problema dos relacionados no item "b".

Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo, e autorizo a coleta e uso do meu material bucal no estudo supracitado.

(Assinatura do sujeito de pesquisa)

Local e data

Assinatura do Pesquisador

Rubricas:

Sujeito da Pesquisa e /ou responsável legal _____

Pesquisador Responsável _____

Orientador _____ Orientado _____

Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR
Telefone: (41) 3360-7259 e-mail: cometica.saude@ufpr.br

ANEXO IV – FICHA CLÍNICA DO PACIENTE



FICHA CLÍNICA

ID _____ Nº do prontuário _____ Nº da pasta _____

Nome do Paciente _____

RG _____ CPF _____

Data de Nascimento _____ Idade _____ Sexo _____ Estado civil _____

Data do Internamento _____ Data do Exame _____

Profissão: _____ Formação _____

	< 1 SM	1-2 SM	2-4 SM	4-8 SM	> 8 SM
RENDIA					

Obs.: salário mínimo aprox. 670,00 Reais

Hipótese de contaminação: _____ quanto tempo _____

	S	N	OBSERVAÇÕES
Fumante			
Etilico			
Dependente químico			

EXAME DO PACIENTE:

História Clínica: _____

HOSPITAL OSWALDO CRUZ
 Rua Amintas de Barros, 816 – Alto da XV – 80.060-200 – Curitiba – Paraná
 Fone: (41) 3281-1000 Fax: (41) 3281-1035 – e-mail hoc@sesa.pr.gov.br





Exame Físico Odontológico: _____

Medicamentos: _____

TARV antes do internamento: _____

Observações: _____

Observação: exames em anexo CV, Log, CD4, %, CD8, %, CD4/CD8, CD45.

Responsável pelo preenchimento da ficha clínica: _____

Assinatura: _____ Data ____/____/____

HOSPITAL OSWALDO CRUZ
 Rua Amintas de Barros, 816 – Alto da XV – 80.060-200 – Curitiba – Paraná
 Fone: (41) 3281-1000 Fax: (41) 3281-1035 – e-mail hoc@sesa.pr.gov.br

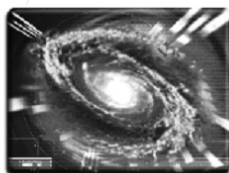


ANEXO V – BULA DO KIT DE CITOLOGIA EM MEIO LÍQUIDO

**Sistema de Citologia Líquida
de Segunda Geração**

PARA USO DIAGNÓSTICO
“IN VITRO” SOMENTE

Liqui-PREPTM



SIRIUS
Tecnologia em diagnósticos



ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
Finalidade de uso	1
Componentes do kit	1
Estabilidade	1
Cuidados	1
Princípios do processo	1
Material necessário, mas não fornecido.....	2
PROCEDIMENTO DE ENSAIO.....	2
<i>Passo 1 – Coleta e preservação da amostra</i>	<i>2</i>
1.1 Coleta cervical.....	2
1.2 Fluidos Corpóreos de Grandes Volumes.....	2
1.3 Fluidos Corpóreos de Pequenos Volumes.....	3
1.4 Escovas de coleta bronquial e outros vários coletores	3
1.5 Aspirados de agulhas finas e biópsias.....	3
1.6 Escarro	4
<i>Passo 2 - Concentração e limpeza da amostra.....</i>	<i>4</i>
<i>Passo 3 – Encapsulação e aderência para todos os tipos de amostra.....</i>	<i>4</i>
3.1 Tabela de diluição do celular base.....	5
3.2 Fórmula do cálculo do g – force	5
NOTAS GERAIS.....	5

INTRODUÇÃO

Finalidade de uso:

Para o processo de amostras citológicas coletadas no sistema de citologia líquida, que resultará em uma lâmina preparada, pronta para ser corada e lida, resultando no diagnóstico.

O **Liqui-PREP** Cytology Processing Kit, tem a intenção de reduzir o tempo de leitura, otimizar a flexibilidade do processo, aumentar o número de células visíveis na lâmina e permitir a repetição e a duplicação de lâminas.

COMPONENTES DO KIT

São três os componentes do **Liqui-PREP** Kit:

Liqui-PREP Specimen Collection Vial – Apresentado em frascos para coleta, com 10 ml de Liqui-PREP Preservative Solution. Este componente tem a função de preservar a amostra citológica coletada. (300 unidades)

Liqui-PREP Cellular Base Solution - Apresentado em frasco de 225 ml. Este componente faz a encapsulação e aderência das células na lâmina depois de processadas. (1 unidade)

Liqui-PREP Tubo de Centrifuga – Apresentado em volume de 15ml. Utilizado para centrifugação das amostras. (300 unidades)

ESTABILIDADE

Os reagentes são estáveis até a data de expiração constante na embalagem. As amostras coletadas em **Liqui-PREP** Preservative Solution, têm 60 dias de estabilidade, em 10º a 30ºC. Estoque o kit em 10º a 30ºC.

CUIDADOS

O **Liqui-PREP** Preservative Solution, contém uma mistura diluída de < 20% de álcool denaturado. Não deve ser ingerida por humanos.

PRINCÍPIOS DO PROCESSO

Depois de coletada, a amostra poderá ser preservada diretamente no frasco do **Liqui-PREP** Preservative Solution, ou se não houver esta possibilidade, esta deverá ser colocada posteriormente por 1 hora no **Liqui-PREP** Preservative Solution, antes do seu processo.

Depois de preservada, a amostra será concentrada usando a centrífuga, e o sobrenadante será descartado deixando somente o “pellet” celular.

O **Liqui-PREP** Cellular Base Solution será adicionado ao “pellet” celular, para encapsular e aderir uma determinada alíquota da amostra na lâmina. Depois da adição a amostra deverá ser bem misturada usando Vortex, e uma alíquota de 50ul dessa suspensão homogênea será colocada na lâmina de vidro, resultando num círculo com um diâmetro de 10 a 22 mm (Ao critério do usuário). Depois desta seca, deverá ser corada e lida ao microscópio por profissional treinado.

Observação: Ao processar amostras muito mucosas, como lavagem bronquial, escarro ou algumas amostras ginecológicas, sugerimos utilizar o **Liqui-PREP** Cleaning Solution*, que será adicionado ao tubo de centrifugação, antes dessa amostra ser centrifugada para concentrar.

* **Liqui-PREP** Cleaning Solution é comercializado separadamente do Liqui-PREP Cytology Processing Kit, sendo fornecido em frascos de 410 ml.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

- Lâminas de vidro para microscópio (tipo regular limpa)
- Centrífuga – Modelo com caçapas móveis
- Misturador tipo Vortex
- Dispensadores de precisão – pipetas de 50 a 500 ul
- Pipetas para dispensar 4ml
- Álcool denaturado a 100%

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

- Lâminas de vidro para microscópio (tipo regular limpa)
- Centrífuga – Modelo com caçapas móveis
- Misturador tipo Vortex
- Dispensadores de precisão – pipetas de 50 a 500 ul
- Pipetas para dispensar 4ml
- Álcool denaturado a 100%

PASSO 1 - COLETA E PRESERVAÇÃO DA AMOSTRA

1.1 Coleta Cervical

Depois de colher a amostra usando uma escova cervical apropriada (pode ser fornecido com o Kit), a cabeça desta deve ser destacada e colocada dentro do **Liqui-PREP** Specimen Collection Vial.

No entanto, se for usado um método alternativo de coleta onde não se possa destacar a cabeça da escova, como no caso de ESPÁTULA, o coletor das células deve ser vigorosamente sacudido dentro do **Liqui-PREP** Specimen Collection Vial, por 10 a 15 vezes, para que as células se soltem.

Identificar a amostra citológica colhida na etiqueta do frasco e enviá-la ao laboratório que fará o processo e a análise.

O tempo mínimo que essa amostra deve permanecer dentro do líquido preservante, antes de ser processada, é de uma hora.



1.2 Fluidos Corpóreos de Grandes Volumes

Urina, Fluido Sinovial, Lavagens Bronquiais, Fluidos Abdominais, etc.

- Homogeneize a amostra completamente usando os procedimentos normais de laboratório.
- Coloque uma quantidade representativa dessa amostra (40 ml) em dois tubos para centrifugação de 50 ml e centrifugue a 1000g-força por 10 minutos.
- Descarte o sobrenadante e adicione em cada um dos tubos 5 ml de **Liqui-PREP** Preservative Solution contido dentro do **Liqui-PREP** Specimen Collection Vial.

- Misture muito bem usando o Vortex. Coloque as amostras desses 2 tubos de 50 ml dentro de um tubo de centrifugação de 15 ml.
- Misture bem usando Vortex e deixe a amostra preservando por 1 hora antes de processar.

1.3 Fluidos Corpóreos de Pequenos Volumes Fluidos Cerebrais ou Liquor de Medula, etc.

- Homogeneize a amostra completamente usando os procedimentos normais de laboratório.
- Transfira a amostra para o tubo de centrifugação fornecido e centrifugue-a a 1000 g - force por 10 minutos.
- Descarte o sobrenadante e adicione 8 ml de **Liqui-PREP** Preservative Solution a esse “pellet”.
- Misture bem em Vortex e deixe concentrar por 1 hora antes de processar.

Nota: A maioria desse tipo de amostras vem para o laboratório em tubos cônicos. Eles podem ser usados no processo.

1.4 Escovas de Coleta Bronquial e Outros Vários Coletores



No caso da coleta ser realizada, por exemplo, com escova endometrial, a cabeça da escova deverá ser cortada e colocada dentro do **Liqui-PREP** Collection Vial, para que as células sejam preservadas.

Corte a cabeça num tamanho de 3,5cm, ou menor. Isso assegura que a escova seja coberta pelo **Liqui-PREP** Preservative Solution.

Outra alternativa: no caso de usar uma escova com ponta não destacável, agite a cabeça do coletor vigorosamente dentro do **Liqui-PREP** Preservative Solution, 10 a 15 vezes assegurando que as células colhidas sejam colocadas dentro da solução preservante.

Depois que colocar as células no **Liqui-PREP** Collection Vial, escreva as informações do Paciente na etiqueta constante no frasco, e envie ao laboratório para ser processada a lâmina e a análise da mesma. O tempo mínimo de preservação é de uma hora.

1.5 Aspirados de Agulhas Finas e Biópsias

- Usando **Liqui-PREP** Preservative Solution: Depois de aspirar o tecido, o conteúdo da seringa deverá ser colocado gentilmente dentro do tubo de coleta, contendo 8ml de **Liqui-PREP** Preservative Solution, usando o método de aspirar e expelir, para assegurar que todas as células colhidas sejam examinadas. Deixar preservando pelo menos 1 hora antes de processar.
- Envie então ao laboratório.
- Usando Solução de Heparina - Depois do tecido aspirado, o conteúdo da seringa deverá ser colocado gentilmente dentro do tubo de coleta, contendo 4ml de Solução de Heparina. A seringa deve ser enxaguada várias vezes no método aspira/expira dentro do Preservative Solution.
- Quando a amostra chegar ao laboratório deverá ser imediatamente centrifugada a 1000 g - force, por 10 minutos. A solução heparínica deverá ser decantada, depois da centrifugação, deixando somente o “pellet”. A esse “pellet” deve-se adicionar 8ml de **Liqui-PREP** Preservative Solution.
- Preservar por, pelo menos, uma hora antes de processar.

1.6 Escarro

Coloque a química para digestão seguindo as instruções do fabricante, e depois de digerido:

- Coloque a amostra num tubo para centrifugação de 15ml.
- Centrifugue-a a 1000 g - force por 10 minutos.
- Descarte o sobrenadante deixando somente o “pellet”.
- Adicione sobre esse “pellet” 8 ml de **Liqui-PREP** Preservative Solution.
- Misture muito bem usando Vortex.
- Preserve a amostra por uma hora antes de processar.

Processo Manual

- Dilua a amostra fresca de escarro com **Liqui-PREP** Preservative Solution em duas vezes o volume da amostra.
- Homogeneize, usando um liquidificador, conforme descrito por Saccomanno, et.al.
- Coloque a amostra homogeneizada num tubo para centrifugação e agite bem usando o Vortex.
- Deixe essa amostra preservando por uma hora antes de processar.

PASSO 2 - CONCENTRAÇÃO E LIMPEZA DA AMOSTRA (QUANDO NECESSÁRIA)

Todas as amostras colhidas já preservadas no **Liqui-PREP** Specimen Collection Vial deverão ser processadas conforme as situações abaixo:

Procedimento para amostras normais ou com poucos interferentes (muco ou sangue)

- Misture bem a amostra usando Vortex por 5 a 20 segundos.
- Coloque essa amostra num tubo de centrifugação de 15ml.
- Centrifugue-a a 1000 g - force por 10 minutos.
- Descarte o sobrenadante e bata levemente o tubo para que o líquido saia completamente, ficando somente o “pellet”.
- Esse “pellet” residual estará pronto para ser encapsulado e aderido.

Procedimento de limpeza de amostras com muitos interferentes (muco ou sangue), usando o **Liqui-PREP** Cleaning Solution

- Misture bem a amostra usando Vortex por 5 a 20 segundos.
- Pipete 4ml de **Liqui-PREP** Cleaning Solution dentro de um tubo de centrifugação de 15ml.
- Com cuidado, transfira completamente a amostra do tubo de coleta para o tubo contendo os 4ml de **Liqui-PREP** Cleaning Solution.
- Centrifugue-a a 1000 g - force por 10 minutos.
- Descarte o sobrenadante e bata levemente o tubo para que o líquido saia completamente, ficando somente o “pellet”.
- Esse “pellet” residual estará pronto para ser encapsulado e aderido.

PASSO 3 – ENCAPSULAÇÃO E ADERÊNCIA PARA TODOS OS TIPOS DE AMOSTRA

- Observe o tamanho do “pellet” de células. Se o tamanho do “pellet” de células for 200ul a 300ul, adicione 500ul de **Liqui-PREP** Cellular Base.
- Para “pellet” de células < 200ul ou > 300ul, siga o quadro 3.1.
- Misture a amostra completamente usando Vortex, e pipete 50ul sobre uma lâmina limpa de vidro. Lembre-se sempre de misturar a amostra antes de fazer cada lâmina.
- Deixe a lâmina secar, então core e leia ao microscópio.

3.1 Tabela de Diluição do Cellular Base

PELLET TAMANHO	QUANTIDADE DE CELLULAR BASE	PELLET TAMANHO	QUANTIDADE DE CELLULAR BASE
< 50 µl	50 µl to 150 µl	500 µl	900 µl to 1000 µl
100 µl	200 µl to 300 µl	600 µl	1100 µl to 1200 µl
200 µl	500 µl	700 µl	1300 µl to 1400 µl
300 µl	500 µl to 600 µl	800 µl	1500 µl to 1600 µl
400 µl	700 µl to 800 µl	900 µl	1700 µl to 1800 µl

3.2 Fórmula do Cálculo do g-force:

Entre em contato com a assessoria da SIRIUS através do e-mail assessoria@siriusediagnosticos.com.br e obtenha o arquivo em Excel com a planilha de conversão de g-force para RPM. Assim conseguirá um perfeito ajuste da sua centrífuga.

Tabela de RPM para algumas medidas de raio de rotação.

RAIO DE ROTAÇÃO	G-FORCE	RPM
10 cm	1000	3000
12,5 cm	1000	2700
15 cm	1000	2500
17,5 cm	1000	2300
20 cm	1000	2100

Notas Gerais:

Poderão ser colocados em cada lâmina dois círculos de células de cada amostra.

As lâminas processadas com o **Sistema Liqui-PREP** são estáveis por até dois (2) dias em temperatura ambiente antes de corar.

A aderência e encapsulação das células das amostras, nas lâminas, vão depender também da lâmina estar apropriadamente limpa. Limpe as lâminas antes do uso, enxaguando-as em álcool desnaturado a 100% e coloque para secar em posição vertical, em lugar limpo.

As lâminas depois de processadas podem secar em temperatura ambiente ou em estufa com temperatura de até 50°C.

LGM International, Inc.
Website: www.lgmintl.com

Liqui-PREP é um marca registrada da LGM International, Inc. Patente Pendente

ANEXO VI – BULA DO CONJUNTO DE COLORAÇÃO DE PAPANICOLAOU

**CONJUNTO DE COLORAÇÃO PAPANICOLAU**

Conjunto de corantes para citologia esfoliativa (coloração citológica humana)

INFORMAÇÕES TÉCNICAS

Conjunto de Coloração de Papanicolau é o método mais utilizado para a citologia esfoliativa, sendo composto pelos corantes: Nº 1- Hematoxilina de Harris, Nº 2- Orange G6 e Nº 3- EA-36.

Esta coloração é a técnica mais econômica para pesquisar células cancerosas, principalmente quando procedentes do útero (através do exame da secreção vaginal) e brônquios através do exame do escarro, e para indicar ao cirurgião a biopsia em casos suspeitos. No caso de derrame da pleura, do pericárdio e do peritônio, a maior aplicação reside na pesquisa de células cancerosas, sobretudo metastáticas. Além da identificação das células cancerosas, o método de PAPANICOLAU é aplicado para verificar as alterações hormonais do ciclo menstrual (citologia hormonal), a cromatina sexual em esfregaços da mucosa oral e para diagnósticos de diversos agentes etiológicos, sobretudo fungos, tanto nos esfregaços vaginais quanto no escarro.

Hematoxilina de Harris é um corante nuclear, que atua em meio aquoso, por isso requer hidratação prévia dos preparados em álcoois em concentração decrescente, seguido de coloração citoplasmática pelos corantes Orange G6 e EA-36, que são precedidos por uma desidratação em álcoois em concentração crescente. Por último os esfregaços são lavados e clarificados com álcool a 96% e xilol. A transparência que esta coloração confere aos citoplasmas, permite a observação de estendidos celulares grossos.

DENOMINAÇÃO GENÉRICA: COLORAÇÃO CITOLÓGICA HUMANA

REGISTRO NO MINISTÉRIO DA SAÚDE: 10287910052

APRESENTAÇÃO

Conjunto de 03 frascos de 500 mL

Nº 1 - Hematoxilina de Harris

Nº 2 - Orange G6

Nº 3 - EA 36

COMPOSIÇÃO

Hematoxilina de Harris: Hematoxilina: 5,1 g/L; Álcool etílico a 96°: 50 mL/L; Sulfato Alúmen de potássio: 100 g/L; Óxido amarelo de mercúrio: 2,5 g/L; Ácido Acético: 4 mL/L; Água purificada: 1000 mL.

Orange G6: Orange G: 5 g/L; Ácido fosfotúngstico: 0,15 g/L; Água purificada: 100 mL/L; Álcool etílico a 96°: 900 mL/L.

EA 36: Eosina Amarelada: 2,5 g/L; Verde Claro Amarelado: 2,5 g/L; Marrom de Bismarck: 0,5 g/L; Ácido fosfotúngstico: 2 g/L; Solução Saturada de Carbonato de Lítio: 0,5 mL/L; Água purificada: 100 mL/L; Ácido Acético: 1 mL/L; Álcool etílico a 95° q.s.p. 1000 mL.

ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DO PRODUTO

Conservar e transportar o produto em temperatura ambiente (15° a 30° C).

Válido por 24 meses após a fabricação.

Verificar o prazo de validade na embalagem.

Nunca utilizar produtos com validade expirada.

CUIDADOS NA UTILIZAÇÃO DO PRODUTO

Utilizar equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara).

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS COM O PRODUTO

Lâmina de microscopia.

AMOSTRA

Amostras de material cérvico vaginal.

CUIDADOS NO MANUSEIO DA AMOSTRA

Por tratar-se de material biológico, manusear a amostra clínica de acordo com as normas de biossegurança e utilizar equipamentos de proteção individual (luvas, avental e máscara).

TÉCNICA DE USO

TÉCNICAS PARA A COLORAÇÃO: Imergir as lâminas em análise em cubas de coloração contendo as soluções na sequência abaixo discriminadas, devidamente identificadas, respeitando-se o tempo determinado.

CUBA Nº	REATIVO	TEMPO
1	Etanol a 80%	2 minutos
2	Etanol a 70%	2 minutos
3	Etanol a 50%	2 minutos
4	Água destilada	2 minutos
5	HEMATOXILINA DE HARRIS (Nº 1)	45 segundos (tempo a ser ajustado)
6	Água corrente	10 minutos
7	Etanol a 50%	2 minutos
8	Etanol a 70%	2 minutos
9	Etanol a 80%	2 minutos
10	Etanol a 96%	2 minutos
11	ORANGE G6 (Nº 2)	2 minutos
12	Etanol a 96%	2 minutos
13	Etanol a 96%	2 minutos
14	EA-36 (Nº 3)	2 minutos
15	Etanol a 96%	2 minutos
16	Etanol a 96%	2 minutos
17	Etanol a 96%	2 minutos
18	Xilol	2 minutos
19	Xilol	2 minutos
20	Montagem com Bálsamo do Canadá.	

OBSERVAÇÕES:

O tempo da Hematoxilina de Harris de 45 segundos, nem sempre dá resultado satisfatório, portanto quando necessário, deverá ser ajustado.

Deve-se eliminar os excessos das soluções quando se passa de uma cuba para outra, menos na passagem da Hematoxilina para água corrente que deve ser imediata.

Os corantes devem ser renovados mensalmente.

Os corantes devem ser filtrados regularmente.

As soluções alcoólicas devem ser renovadas semanalmente (evaporam e se turvam facilmente).

Tempo maior no Xilol pode alterar a coloração dos nucléolos.

Seguindo os princípios técnicos de Masson, as passagens pelo álcool podem ser feitas diretamente pelo álcool absoluto, para hidratação e desidratação dos esfregaços. Assim eliminam-se as passagens pelos álcoois de concentração mais baixa, o que torna a coloração mais rápida.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Núcleos: Azul/Citoplasma de células superficiais: Róseo (células eosinófilas) /Citoplasma de células intermediárias, parabasais, e basais: azul esverdeado (células cianófilas).

DESCARTE DO PRODUTO E DA AMOSTRA

Descartar o produto e a amostra de acordo com o programa de gerenciamento de resíduos do laboratório.

* Para o produto sem contato com a amostra seguir o plano de gerenciamento de resíduos químicos

* Para a amostra e produto com amostra seguir plano de gerenciamento de resíduos infectantes ou possivelmente infectantes.

CONTROLE DE QUALIDADE

Realizar o controle a cada nova partida de reagentes e em periodicidade estabelecida conforme a necessidade do laboratório.

GARANTIA DA QUALIDADE

Este produto é fabricado e liberado para venda após testes de controle de qualidade para cada lote, conforme normas das Boas Práticas de Fabricação e Controle de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*.

Para eficácia do produto é necessário:

- Utilizar amostras clínicas coletadas, transportadas e armazenadas de acordo com a indicação da literatura especializada;
- Seguir rigorosamente todas as etapas descritas nesta instrução de uso.
- Utilizar acessórios e equipamentos adequados e em boa conservação.
- Transportar e armazenar o produto de acordo com as condições indicadas.
- Nunca utilizar produtos com a embalagem original danificada.
- Nunca utilizar produto com prazo de validade expirado.

Caso ocorra qualquer problema na utilização do produto relativo à qualidade intrínseca do mesmo, que tenha ocorrido por falha de fabricação comprovada, a **Newprov** resolverá a questão sem ônus ao cliente, conforme determinado na Lei 8.078/90 – Código de Defesa do Consumidor.

A Newprov disponibiliza aos seus clientes assessoria técnica para quaisquer esclarecimentos necessários quanto a utilização deste produto que não estejam contemplados nesta instrução de uso, através de contato com o SAC - Serviço de Atendimento ao Consumidor.

Certificados de análise de cada lote estão disponíveis na empresa e podem ser encaminhados ao cliente sempre que solicitados ao SAC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

TODD & SANFORD & DAVIDSOHN. **Diagnósticos Clínicos e Conduta Terapêutica por Exames Laboratoriais**. 16. ed. Editora Manole, 1982.

LIMA, A. O. **Métodos de Laboratório Aplicados a Clínica**. 7.ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992.

IOVINE, E. & SELVA, A.A. **El Laboratorio en la Clinica**. Buenos Aires, Panamericana, 1975.